

Germinação *in vitro* de embriões zigóticos de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.)

Nunes, Claudinéia Ferreira¹ Pasqual, Moacir², Santos, Dalílhia Nazaré dos³, Santos, Adriene Matos dos³

¹Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UFLA), Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3821 4016, email: nunesfr@yahoo.com.br; ² Eng. Agr. Dr, Professor Titular da Universidade Federal de Lavras. Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829 1323, email: mpasqual@ufla.br; ³ Graduanda em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829 1166, email: dalilhia@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

O óleo do pinhão-manso é considerado eficiente para a produção de biodiesel. Porém, um grande número de informações referentes à espécie precisam ser geradas, envolvendo estudos técnicos científicos, novas alternativas de propagação da espécie e criação e manutenção de banco de germoplasma.

O cultivo *in vitro* de embriões é considerado uma das vias de propagação que pode ser utilizada para avançar nos conhecimentos sobre a biologia do pinhão-manso, uma vez que essa técnica permite estudos nas áreas de fisiologia e melhoramento vegetal. Entretanto, o cultivo de embriões exige cuidados fundamentais para o seu sucesso, tais como: assepsia do explante, excisão do embrião e meio de cultivo que atenda às exigências dos diferentes estádios de desenvolvimento embrionário.

Dependendo da espécie e do estágio de desenvolvimento dos embriões, o meio de cultura deve ser desprovido de carboidratos ou suplementado com concentrações mínimas desse constituinte (Garcia et al., 2002).

O estágio fisiológico do fruto e/ou do embrião no cultivo *in vitro* é fundamental para a expressão de seu potencial morfogenético. Pereira et al. (2006), trabalhando com murmurú (*Astrocaryum ulei*) verificaram que embriões oriundos de frutos maduros apresentaram maior crescimento *in vitro*, quando comparado aos embriões oriundos de frutos imaturos.

Mediante a necessidade de produção de grande quantidade de mudas e da ampliação do conhecimento da espécie, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência de concentrações de sacarose e a idade fisiológica do fruto na germinação *in vitro* de embriões zigóticos de pinhão-manso.

MATERIAL E MÉTODOS

Frutos nos estádios imaturo, maduro e seco, coletados de plantas adultas de pinhão-manso, cultivadas em propriedade particular de plantio comercial, no município de Janaúba, norte de Minas Gerais foram utilizados como fonte de embriões. O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura, Lavras - MG.

Realizou-se o procedimento de assepsia das sementes em água destilada com duas gotas do detergente comercial Ypê® por 1 minuto, seguido de álcool 70% v/v por 1 minuto e hipoclorito de sódio 1% v/v do produto comercial Qboa® por 20 minutos (sob agitação constante). Os agentes desinfestantes foram removidos com tríplice lavagem em água destilada estéril.

Em câmara de fluxo laminar os embriões foram excisados e inoculados, individualmente, em tubos de ensaio de 25 x 150 mm, contendo 15 mL do meio de cultivo MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com diferentes concentrações de sacarose (0, 15, 30 e 60 g L⁻¹) com diferentes idades fisiológicas de frutos (imaturo, maduro e seco). O meio foi solidificado com 6 g.L⁻¹ de agar (Merck®), com pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121°C por 20 minutos. Logo após a inoculação, os embriões foram

transferidos para sala de crescimento a 27 ± 1 °C , irradiância de $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas de 20W (Osram®) com fotoperíodo de 16 horas.

Frutos imaturos caracterizavam-se pela coloração externa verde-cana do epicarpo, os frutos maduros pela coloração marrom-escura e os frutos secos apresentavam coloração preta e se encontravam em fase de deiscência.

Após 30 dias avaliou-se a porcentagem de germinação, comprimento da parte aérea, número de raízes e número de folhas. Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado, em ensaio fatorial 3x4 com quatro repetições. Utilizou-se o software Sisvar (Ferreira, 2000), sendo os dados submetidos à análise estatística, com a aplicação do teste F a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maximização da porcentagem de germinação dos embriões foi obtida com a maior concentração de sacarose, para embriões oriundos de fruto imaturo (Figura 1), sendo a concentração de sacarose indiferente, ou seja, não significativa para os estádios maduro e seco do fruto. A porcentagem de germinação aumentou linearmente com as concentrações de sacarose adicionadas ao meio. A maior porcentagem correspondeu à concentração de 60 g.L^{-1} de sacarose , contribuindo para uma porcentagem de 83,68% de embriões germinados. A ausência de sacarose no meio de cultura impediu a germinação dos embriões oriundos de frutos imaturos, confirmando a necessidade de se adicionar sacarose para o desenvolvimento do embrião.

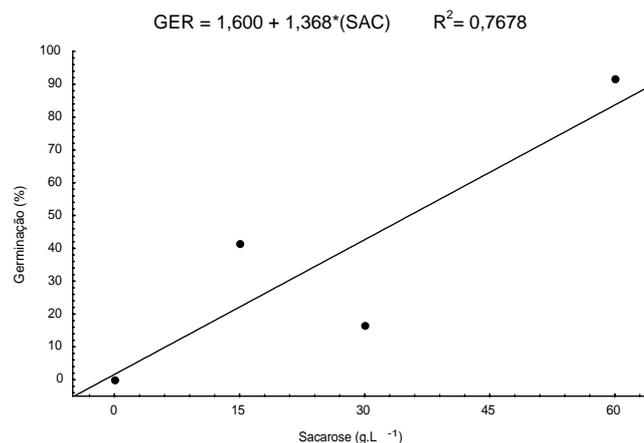


FIGURA 1. Porcentagem de germinação de embriões de *Jatropha curcas* L., oriundos de frutos imaturos, em função da concentração de sacarose no meio MS.

Com esse resultado, verificou-se que no pinhão-manso, provavelmente, o processo de germinação para embriões oriundos de frutos maduros e secos, ocorre devido às reservas nutricionais dos cotilédones, independentemente, do fornecimento de sacarose.

O aumento das concentrações de sacarose, no meio de cultura, beneficiou o comprimento da parte aérea das plântulas (Figura 2), seguindo um crescimento linear, independentemente do estágio em que os embriões foram excisados.

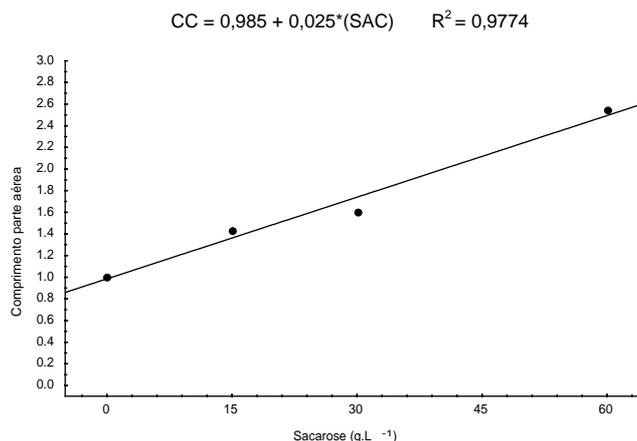


FIGURA 2. Comprimento da parte aérea de plântulas de *Jatropha. curcas* L., em função da concentração de sacarose no meio MS.

Nota-se, que a cada 1,0 g na concentração de sacarose, ocorre uma contribuição de 0,025 cm, no comprimento da parte aérea das plântulas, evidenciando ser a sacarose indispensável para o crescimento das plântulas. Entretanto, a eficiência desse procedimento nem sempre é a desejável, podendo a concentração de 30 g.L⁻¹ responder bem ao objetivo do trabalho. Além do que, o acréscimo de sacarose poderá ser oneroso, quando se trata de um simples ajuste de cultura não resultando em multiplicação.

Os maiores números de raízes e de folhas foram verificados, também, com a concentração de 60 g.L⁻¹ (Figuras 3 e 4).

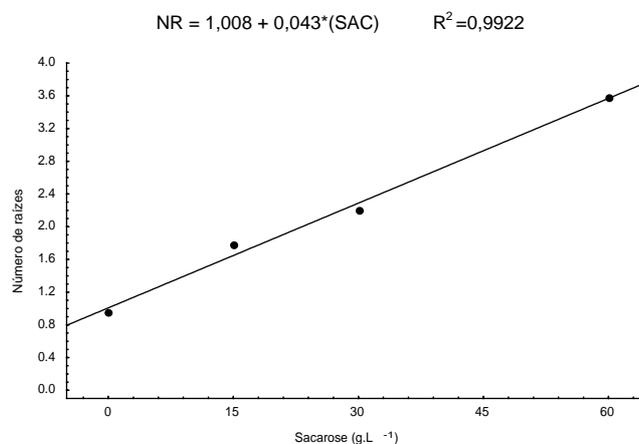


FIGURA 3. Número de raízes de plântulas de *Jatropha. curcas* L., em função da concentração de sacarose no meio MS.

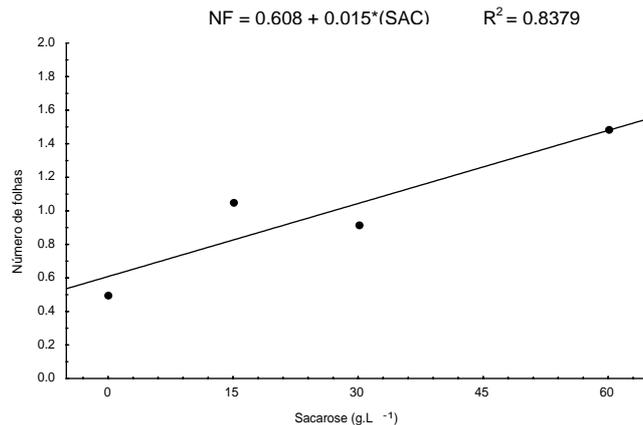


FIGURA 4. Número de folhas de plântulas de *Jatropha curcas* L., em função da concentração de sacarose no meio MS.

A alta concentração de sacarose no meio de cultura contribui para a obtenção de um crescimento ótimo, suportando as mais altas taxas de crescimento na maioria das espécies. Entretanto, teores elevados podem inibir a síntese de clorofila nas espécies cultivadas. É sabido, que a sacarose no meio de cultivo *in vitro* influencia vários processos metabólicos nas culturas, apresentando efeito sobre o crescimento e diferenciação dos tecidos.

Resumidamente, as melhores médias para as variáveis, comprimento da parte aérea, número de raízes e folhas, foram observados, quando se utilizaram embriões provenientes de frutos secos, indicando que os embriões mais desenvolvidos suportam melhor o crescimento *in vitro*, possivelmente, em razão do estágio mais avançado de diferenciação dos tecidos.

CONCLUSÕES

Embriões zigóticos provenientes de frutos imaturos de pinhão-manso necessitam da suplementação de sacarose, no meio de cultura, para sustentar sua germinação.

Embriões oriundos de frutos secos apresentam melhor desempenho *in vitro*.

O meio MS suplementado com 6,0 g.L⁻¹ de sacarose proporciona bom desenvolvimento dos embriões.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4. 0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

GARCÍA, J. L.; TRONCOSO, J.; SARMIENTO, R.; TRONCOSO, A. Influence of carbon source and concentration on the *in vitro* development of olive zygotic embryos and explants raised from them. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 69, n. 1, p. 95-100, Apr. 2002.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 6, p. 473- 479, June 1962.

PEREIRA, J. E. S.; MACIEL, T. M. S.; COSTA, F. H. da S.; PEREIRA, M. A. A. Germinação *in vitro* de embriões zigóticos de murmuru (*Astrocaryum ulei*), **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 2, p. 251-256, mar./abr. 2006.

PALAVRAS – CHAVES

Jatropha curcas, sementes oleaginosas, carboidrato, estágio fisiológico.