

GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE SEMENTES DE TRÊS ACESSOS DE PINHÃO MANSO (*Jatropha curcas* L.) EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA

**Paula Mikaely Henrique Vieira¹, Taline Miranda Praça², Stéfanie Cristina de Oliveira¹,
Bruno Galvêas Laviola³, Milene Miranda Praça-Fontes¹**

¹Universidade Federal do Espírito Santo/Departamento de Produção Vegetal, Alto Universitário S/N – CX Postal 16, CEP:29.500.000 – Alegre - ES, Brasil, paulamhv@hotmail.com, oliveirascbio@yahoo.com.br, milenemiranda@yahoo.com.br

²Universidade Federal de Viçosa/Departamento de Fitotecnia, Campus Universitário S/N – CEP:36570-000 – Viçosa - MG, Brasil, talinemiranda@yahoo.com.br

³Embrapa Agroenergia, Parque Estação Biológica – PqEB s/n Asa Norte- CEP: 70770-901 - Brasília, DF – Brasil, bruno.laviola@embrapa.br

Resumo- O Pinhão Manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie perene da família Euphorbiaceae. Possui porte arbustivo e se destaca por sua característica oleaginosa com grande potencial para produção de biodiesel. Este trabalho teve como objetivo avaliar a germinação *in vitro* de sementes de três acessos de *J. curcas* em três diferentes meios de cultura. Após desinfestação superficial com lavagem em hipoclorito de sódio, as sementes foram inoculadas em tubos de ensaio contendo três diferentes meios de cultura para germinação, MS, MS½ e AAS (sem vitaminas e sais), acrescidos de sacarose e ágar. As seguintes variáveis foram avaliadas: porcentagem de germinação e contaminação, número de folhas, altura da parte aérea da plântula, comprimento da raiz e biomassa fresca. As médias foram submetidas à análise de variância e Teste de Tukey 5%. O tratamento AAS resultou em 81,11% de germinação e o MS 64,44%, a menor taxa alcançada.

Palavras-chave: Pinhão manso, meios de cultura, germinação *in vitro*

Área do Conhecimento: Cultura de tecidos

Introdução

O biocombustível obtido a partir de óleos vegetais vem sendo cada vez mais estudado e visto como alternativa para a substituição dos combustíveis fósseis (BELTRÃO et. al. 2009). *Jatropha curcas* L., popularmente conhecida como pinhão manso é uma oleaginosa com grande potencial para produção desse biocombustível. O óleo extraído das sementes pode ser utilizado em motores a diesel indicando seu potencial como fonte de energia renovável (LUTZ, 1992).

O pinhão manso é nativo provavelmente da América Central, pertencente à família Euphorbiaceae; é um arbusto perene encontrado em abundância em muitas regiões tropicais e subtropicais em toda América e Ásia devido à fatores favoráveis como sua rusticidade, fácil propagação, resistência à seca e rápido crescimento (KUMAR e SHARMA, 2008).

A cultura de tecidos é uma técnica de cultivo de plantas onde pequenos fragmentos de tecido vegetal, explantes, são isolados, desinfestados e cultivados assepticamente. O objetivo é produzir plantas idênticas à original ou regenerar plântulas saudáveis, vigorosas e puras (TORRES et al. 1998). Alguns estudos de germinação *in vitro* têm sido realizados com pinhão manso (CARVALHO et

al. 2010), no entanto muitos acessos e variedades necessitam ser pesquisados.

A cultura de tecidos garante por meio da micropropagação a multiplicação *in vitro* da espécie. Essa técnica busca atender as necessidades internas do material propagado, permitindo acelerar os métodos convencionais de propagação vegetativa, fator de interesse comercial para companhias produtoras de mudas (TORRES et. al. 1998).

O objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito de diferentes meios de cultura, baseados em Murashige e Skoog (1962), na germinação das sementes e no desenvolvimento das plantas de três acessos de pinhão manso (CNPAE 101, CNPAE 170 e CNPAE 259), para sua micropropagação.

Metodologia

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal do Espírito Santo – Centro de Ciências Agrárias, em Alegre. As sementes dos três acessos de pinhão manso (CNPAE 101, CNPAE 170 e CNPAE 259) foram desinfestadas com lavagem em hipoclorito de sódio durante 20

minutos seguida da lavagem em água destilada e imersão em etanol 92,8% por 1 minuto, finalizando com 3 lavagens em água destilada.

Para a inoculação das sementes de pinhão manso foram utilizados 3 diferentes meios de cultura: (1) meio MS (2) meio MS½, com 50% da concentração padrão de sais e (3) meio AAS, constituído somente de água destilada. Todos os meios foram acrescidos de sacarose (13,5g), solidificados com ágar (3,15g/l) e o pH foi ajustado para $5,7 \pm 0,1$. Todo material foi esterilizado em autoclave a 120°C e $1.1\text{ Kg}/\text{cm}^2$.

As sementes foram mantidas em sala de cultivo sob iluminação artificial com luz branca do tipo luz do dia (tubos fluorescentes), com fluência de $1,6\text{ W}/\text{m}^2$, fotoperíodo diário de 16 horas e temperatura a $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 3×1 (três meios de cultura-variável MS, variável MS½ e variável AAS- e um acesso). Esse esquema foi realizado para os três acessos pesquisados no presente trabalho com três repetições cada. A unidade experimental foi constituída de 10 tubos de ensaio, cada um com uma semente, totalizando 90 tubos por acesso. O experimento foi avaliado após o período de 35 dias quanto ao número de sementes germinadas e porcentagem de contaminação, presença de raiz, número de folhas, altura da parte aérea da plântula e biomassa fresca.

As médias obtidas da taxa de germinação foram submetidas à análise de variância e Teste de Tukey 5%. Os dados não foram submetidos ao teste de normalidade e o trabalho foi realizado com os valores puros. Para efeito de cálculo os indivíduos contaminados foram considerados como não germinados. As análises foram realizadas no programa Assitat.

Resultados

A taxa de contaminação das culturas variou de 7,7% no meio MS, 3,3% no meio MS½ e 2,2% no meio AAS. A maior porcentagem de germinação (81,11%) foi obtida no tratamento AAS. Já a menor taxa (64,44%) foi alcançada no meio MS. O tratamento MS½ possibilitou que 77,7% de plântulas germinassem. Os valores médios individuais da taxa de germinação das sementes de cada acesso encontram-se na Tabela 1. Pelo teste de Tukey observou-se que não houve diferença significativa entre os diferentes meios utilizados para os três acessos.

O tratamento com AAS e MS proporcionou o melhor resultado para o acesso CNPAE 259, enquanto o meio MS½ foi melhor para o desenvolvimento do acesso CNPAE 101.

Com relação a altura da plântula o meio MS½ apresentou a melhor média de crescimento (3,48cm). Os valores para esta variável analisada em cada acesso submetido aos diferentes tratamentos encontram-se na Tabela 2. As plântulas podem ser observadas nas figuras 1, 2 e 3.

Tabelas 1 – Valores médios de sementes germinadas dos acessos de pinhão manso submetidos aos três meios de cultura (MS, MS½, ASS)

Acessos	Meios		
	MS	MS½	AAS
CNPAE 101	7,66a	8,66a	7,66a
CNPAE 170	3,66a	7,33a	7,33a
CNPAE 259	8,00a	7,33a	9,66a

As médias seguidas pela mesma letra não diferenciaram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey 5%.

Tabela 2 - Altura da parte aérea da plântula (cm) após o período de 35 dias de cultivo *in vitro* submetido aos diferentes meios de cultura

Meios	Altura dos acessos		
	CNPAE 101	CNPAE 170	CNPAE 259
MS	3,57	0,96	2,99
MS½	4,32	2,92	3,21
AAS	2,38	2,61	3,11

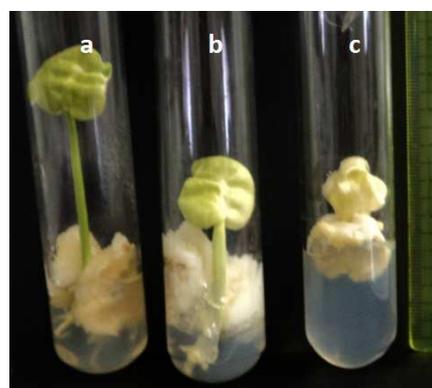


Figura 1- Germinação do acesso 101 submetido aos meios MS (a), MS½ (b) e AAS (c) aos 21 dias de cultivo *in vitro*.

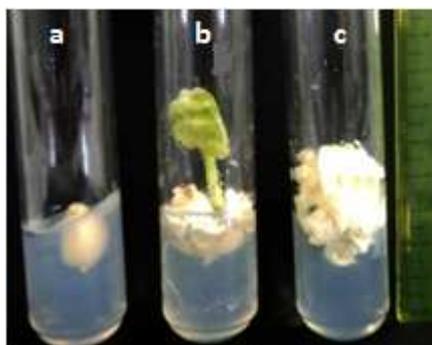


Figura 2- Germinação do acesso 170 submetido aos meios MS (a), MS $\frac{1}{2}$ (b) e AAS (c) aos 21 dias de cultivo *in vitro*.

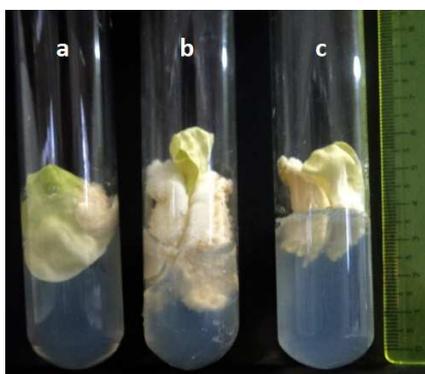


Figura 3- Germinação do acesso 259 submetido aos meios MS (a), MS $\frac{1}{2}$ (b) e AAS (c) aos 21 dias de cultivo *in vitro*

Utilizando o meio ASS foram observadas as maiores médias quanto ao número de folhas e número de raízes. O acesso CNPAE 259 destacou-se entre os demais quanto a variável número de folhas, e o acesso CNPAE 101 foi o melhor para número de raízes.

O meio MS $\frac{1}{2}$ apresentou vantagem para a variável crescimento de raízes, tendo o acesso CNPAE 101 obtido a melhor resposta. Na análise

do peso fresco constatou-se eficácia para o meio MS, sendo o acesso CNPAE 101 aquele de melhor resultado (Tabela 3).

Discussão

Os meios nutritivos utilizados no presente trabalho forneceram diferentes respostas aos acessos CNPAE 101, CNPAE 170 e CNPAE 259. De acordo com Torres et.al. (1998) os meios nutritivos utilizados para a cultura de tecidos fornecem as substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos e controlam, em grande parte o padrão de desenvolvimento *in vitro*. Durante a germinação as concentrações oferecidas no meio são as responsáveis pelas respostas das plântulas, portanto, os meios nutritivos se baseiam nas exigências do organismo quanto aos nutrientes, minerais, vitaminas, açúcares, hormônios e água além de outras alterações que podem ser adicionadas para atender as necessidades específicas *in vitro* (HOPPE et al., 2004).

No presente trabalho, a melhor resposta para a germinação foi obtida com o meio AAS. De acordo com Simão et al. (2010) esse, meio de cultura, possui maior disponibilidade de água livre que os demais meios de cultura avaliados o que pode ter contribuído para a maior taxa de germinação observados.

O meio MS $\frac{1}{2}$ foi favorável ao desenvolvimento das raízes e ao crescimento da parte aérea das plântulas de todos os acessos (CNPAE 101, CNPAE 170 e CNPAE 259), sendo que nesta variável todos os genótipos tiveram boas respostas individualmente destacando-se o genótipo CNPAE 101. De acordo com os resultados obtidos pode-se inferir que a concentração de sais adicionada no meio MS $\frac{1}{2}$ é considerada favorável ao desenvolvimento *in vitro* de plântulas de *J. curcas*.

Tabela 3- Comprimento da raiz (CR), número de folhas (NF), número de raízes (NR) e peso fresco (PF), em plântulas de pinhão manso, após 35 dias de cultivo *in vitro*

Meios	Acessos											
	CNPAE 101				CNPAE 170				CNPAE 259			
	CR	NF	NR	PF	CR	NF	NR	PF	CR	NF	NR	PF
MS	0,56	1,50	1,25	0,87	0,69	0,36	0,31	0,87	0,25	1,63	1,60	0,96
MS $\frac{1}{2}$	0,69	1,90	1,63	0,96	0,63	3,20	1,46	0,96	0,18	1,46	1,13	0,82
AAS	0,77	1,43	2,50	0,55	0,29	1,40	1,20	0,55	0,34	1,90	0,90	0,52

Em relação ao peso fresco da plântula o meio MS apresentou o melhor resultado, este fato pode ser explicado devido a maior disponibilidade de macronutrientes e micronutrientes do meio em questão, o que favoreceu o desenvolvimento da plântula *in vitro*.

Conclusão

Os meios MS e MS $\frac{1}{2}$ foram favoráveis ao desenvolvimento da biomassa para todos os acessos (CNPAE 101, CNPAE 170 e CNPAE 259). O meio mais vantajoso para comprimento das raízes foi o MS e MS $\frac{1}{2}$, sendo o acesso CNPAE 101 o que apresentou melhor resposta. O meio AAS se destacou por ser efetivo na germinação, comprimento de raízes e número de folhas. Deve-se, portanto, utilizar os dois diferentes meios em conjunto. Inicialmente o tratamento com AAS pode facilitar a germinação e o meio MS ou MS $\frac{1}{2}$ posteriormente pode gerar plântulas adequadas à propagação.

Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq e a FAPES pelo auxílio financeiro.

Referências

- BELTRÃO, N. E. M.; OLIVEIRA, M. I. P de; *Documentos 201*, Oleaginosas e seus Óleos: Vantagens e Desvantagens para Produção de biodiesel.
- CARVALHO, J. M. F. C; ARRIEL, N. H. C.; LIMA, I. C. S.; ALVES, M. M. Avaliação de meios de cultivo para pinhão manso (*Jatropha curcas*) L. IV Congresso Brasileiro de Mamona e I Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas, João Pessoa, PB, 2010.
- HOPPE, J. M. et. al. Produção de sementes e mudas florestais, Caderno Didático. Santa Maria, nº 1, 388 p, 2ª ed. Santa Maria, 2004.
- KUMAR A.; SHARMA S. An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropha curcas* L.): a review. *Ind. Crops Prod* 28:1–10, 2008
- LUTZ, A. Vegetable oil as fuel. An environmentally and socially compatible concept for Mali. *gate* 4/92:38-46, 1992.
- SIMÃO, M. J.; DAMASCENO S.; NOGUEIRA, A. M. et.al. Germinação *in vitro* de sementes de losna (*Artemisia absinthium* L.) em diferentes meios de

cultura. XIV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e X Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba. 2010.

- TORRES, A. C.; CALDAS, L. S; BUSO, J. A; Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília, DF. Ministério da Agricultura e do abastecimento.v 1 Meios nutritivos, Parte II ,p. 97-100; Micropropagação p. 183 -260. 1998