



EFEITO DO TEMPO DE DESINFESTAÇÃO E ÉPOCAS DO ANO NO ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE EXPLANTES FOLIARES DE PINHÃO-MANSO

Eduardo Regiani Libert⁽¹⁾; Enes Furlani Junior⁽²⁾; Aline Namie Suzuki⁽³⁾; Luiz De Souza Corrêa⁽⁴⁾; Marcelo José Bissoli⁽⁵⁾; Raiana Crepaldi de Faria⁽⁶⁾; Carlos Vinícius Sanches⁽⁷⁾

RESUMO

O experimento foi conduzido no Laboratório de Micropropagação pertencente à Faculdade de Engenharia da UNESP, Campus de Ilha Solteira – SP, com o objetivo testar a variação do tempo de imersão de explantes foliares de *Jatropha curcas* L. em hipoclorito de sódio comercial em diferentes épocas do ano para o estabelecimento *in vitro* do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). Os experimentos foram realizados em janeiro de 2011, correspondente ao verão, e em julho de 2011, correspondente ao inverno. Como fontes de explantes, foram utilizadas folhas jovens retiradas de plantas de pinhão-manso, cultivadas em vasos. Composta por quatro tratamentos, sendo: T1) Testemunha (não houve imersão em hipoclorito de sódio comercial), T2) 5 minutos de imersão em hipoclorito de sódio comercial, T3) 10 minutos de imersão em hipoclorito de sódio comercial, T4) 15 minutos de imersão em hipoclorito de sódio comercial. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos, cinco repetições e seis tubos por repetição. A porcentagem de explantes foliares vivos no verão (janeiro/2011) foi maior no tratamento com imersão em hipoclorito de sódio comercial por 5 minutos (90,00%), se comparado com os outros tratamentos da mesma época do ano. O tratamento com imersão por 10 minutos em hipoclorito de sódio não diferiu estatisticamente do tratamento em que o tempo de imersão foi 5 minutos, no entanto a diferença percentual entre eles, respectivamente 73,33% e 90,00%, torna o tratamento com 5 minutos de imersão no produto a melhor escolha para desinfestação no período do verão. Quando não houve o uso do hipoclorito de sódio, a infestação por fungos levou à morte todos os explantes foliares. No período do inverno, onde a umidade relativa do ar e a temperatura são baixas, o que reduz a sobrevivência e multiplicação de fungos nas superfícies das plantas, o uso de hipoclorito de sódio para desinfestação dos explantes se mostrou irrelevante.

Palavras-chave: Pinhão-Manso, Micropropagação, Explante foliar, Hipoclorito de sódio

⁽¹⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP, email: edurlibert@gmail.com; ⁽²⁾ Prof. Titular Dr., Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP / Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽³⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP; ⁽⁴⁾ Prof. Titular Dr., Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP / Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁵⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁶⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁷⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP



MICROPROPAGATION THROUGH EXPLANTS LEAF JATROPHA (JATROPHA CURCAS L.). EFFECT OF TIME DISINFESTATION AND TIMES OF THE YEAR IN THE ESTABLISHMENT IN VITRO OF LEAF EXPLANTS JATROPHA

SUMMARY

The experiment was conducted at the Laboratory of Micropropagation belonging to the Faculty of Engineering, UNESP, Single Island - SP , in order to test the variation of immersion time of leaf explants of *Jatropha curcas* L. in commercial sodium hypochlorite at different times of year for the in vitro establishment of *jatropha* (*Jatropha curcas* L.) . The experiments were conducted in January 2011 , corresponding to summer, and in July 2011 , corresponding to winter. Was used as a sample explants taken from young leaves of *jatropha* plants grown in pots were used . Comprising four treatments , as follows:

T1) Control (no immersion in commercial sodium hypochlorite), T2) 5 minutes immersion in commercial sodium hypochlorite, T3) 10 minutes immersion in commercial sodium hypochlorite, T4) 15 minutes immersion in commercial sodium hypochlorite.

The experimental design was completely randomized with four treatments , five replicates and six tubes per replicate. The percentage of live leaf explants in summer (January/2011) was higher in the treatment with immersion in sodium hypochlorite commercial for 5 minutes (90.00%) , compared with other treatments in the same season. Treatment with soaking for 10 minutes in sodium hypochlorite treatment did not differ statistically in the immersion time was 5 minutes, however the percentage difference between them , respectively 73.33 % and 90.00% , makes treatment with 5 minutes of immersion in the product the best choice for pest control in the summer. When there was the use of sodium hypochlorite , fungal infestation led to death all explants foliares.No winter period , where the relative humidity and temperature are low, which reduces the survival and multiplication of fungi on the surfaces of plants , the use of sodium hypochlorite for disinfecting the explant showed irrelevant.

⁽¹⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP, email: edurlibert@gmail.com; ⁽²⁾Prof. Titular Dr., Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP / Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽³⁾Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP; ⁽⁴⁾ Prof. Titular Dr., Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP / Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁵⁾Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁶⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁷⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP



Keywords: Jatropha, Micropropagation, Leaf Explant, Sodium Hypochlorite

INTRODUÇÃO

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) é uma planta nativa da América do Sul e com ampla distribuição na América do Sul e Central, África e Ásia. A espécie é considerada promissora para a produção de biodiesel por seu elevado teor de óleo (25 a 40%), superior ao da maioria das oleaginosas utilizadas no mercado de biocombustíveis (ARRUDA et al., 2004). A espécie tem como seu possível centro de origem a América Sul, de onde foi disseminado por navegadores portugueses para outros locais do mundo que possuíam clima tropical. A utilização do pinhão-manso, como matéria-prima para a produção de biodiesel, vem sendo amplamente discutida e avaliada, uma vez que esta é uma promissora cultura a ser implantada em áreas que não apresentem características edafoclimáticas favoráveis, favorecendo a distribuição do cultivo por todas as regiões brasileiras, permitindo a melhor execução do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel – PNPB (HEIFFIG; CÂMARA, 2006). A planta normalmente é propagada por sementes, mas também por estaquia de ramos (NUNES, 2007; SATURNINO et al., 2005). A micropropagação é uma técnica que permite obter de forma rápida grande quantidade de mudas a partir de um único indivíduo, além de possibilitar a conservação de germoplasma, garantindo a manutenção da biodiversidade, sendo pois extremamente importante para agilizar trabalhos de melhoramento genético (ECHEVERRIGARAY et al., 2001). A multiplicação de plantas via micropropagação se baseia no potencial das células de dar origem a um novo indivíduo a partir de explantes, a chamada teoria da totipotência (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Levando-se em consideração que os trabalhos de micropropagação e cultura de tecidos com a cultura do pinhão-manso são poucos, e é cada vez mais crescente a importância econômica e ambiental da cultura, estudos nessa área se fazem necessários.

OBJETIVOS

O objetivo testar a variação do tempo de imersão de explantes foliares de *Jatropha curcas* L. em hipoclorito de sódio comercial em diferentes épocas do ano para o estabelecimento *in vitro* do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.).

MATERIAIS E MÉTODOS

⁽¹⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP, email: edurlibert@gmail.com; ⁽²⁾ Prof. Titular Dr., Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP / Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽³⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP; ⁽⁴⁾ Prof. Titular Dr., Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP / Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁵⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁶⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁷⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP



Como fontes de explantes, foram utilizadas folhas jovens retiradas de plantas de pinhão-manso, cultivadas em vasos. As folhas passaram pelas seguintes etapas de assepsia:

1. Lavagem das folhas com detergente neutro e enxague em água corrente.
2. Lavagem com álcool 70% por 5 minutos e tríplice enxague com a água destilada e autoclavada, dentro da câmara de fluxo laminar.
3. Lavagem com 300 mL de hipoclorito de sódio comercial e tríplice enxague com a água destilada e autoclavada, dentro da câmara de fluxo laminar.

Após a assepsia, as folhas foram cortadas em quadrados de aproximadamente 5 mm² com o auxílio de um bisturi e placa de petri contendo papel filtro. Ambos os experimentos, janeiro e julho de 2011, foram compostos por quatro tratamentos, listados a seguir:

- T1) Testemunha (não houve imersão em hipoclorito de sódio comercial);
- T2) 5 minutos de imersão em hipoclorito de sódio comercial;
- T3) 10 minutos de imersão em hipoclorito de sódio comercial;
- T4) 15 minutos de imersão em hipoclorito de sódio comercial;

Em todos os tratamentos foram utilizados tubos (16 x 150 mm) contendo meio MS (Murashige e Skoog, 1962), suplementado com 30g L⁻¹ de sacarose, 0,5 mg L⁻¹ de BAP (6-benzilaminopurina) e 2,8 g L⁻¹ de fitagel, com pH ajustado para 5,7 ± 0,1, antes da autoclavagem a 120 °C com 1 Kgf cm⁻² durante 20 minutos.

O estabelecimento foi realizado em sala de crescimento vegetal com temperatura 25 ± 1 °C, sendo mantidas no escuro por 5 dias para o estabelecimento inicial. As variáveis avaliadas foram porcentagem de explantes vivos, oxidados e contaminados (fungos e bactérias). Os explantes foram avaliados 20 dias após a inoculação, considerando os tubos que possuíam ou não as características das variáveis em avaliação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos, cinco repetições e seis tubos por repetição. Os dados foram analisados no programa estatístico SISVAR e as médias comparadas através do teste de Tukey a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A tabela 1, mostra que quando tratado por 5 minutos com hipoclorito de sódio, os explantes foliares sofreram apenas 10% de mortes, já com 10 minutos de imersão, 73,33% dos explantes foliares sobreviveram e por consequência da época do ano, o tratamento testemunha sem imersão com hipoclorito de sódio sofreu 100% de contaminação e morte dos explantes.

No período do inverno, onde a umidade relativa do ar e a temperatura são baixas, o que reduz a sobrevivência e multiplicação de fungos nas superfícies das plantas, o uso de hipoclorito de sódio para desinfestação dos explantes se mostrou

⁽¹⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP, email: edurlibert@gmail.com; ⁽²⁾ Prof. Titular Dr., Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP / Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽³⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP; ⁽⁴⁾ Prof. Titular Dr., Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP / Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁵⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁶⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁷⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP



irrelevante. De acordo com a tabela 1, a testemunha sem imersão em hipoclorito de sódio, mesmo não mostrando diferença estatística, foi o tratamento com melhores resultados, 93,3%, seguido pelo tratamento com 5 minutos de imersão, 90%.

Tabela 1. Porcentagem de explantes foliares de *Jatropha curcas* L. vivos, contaminados e oxidados, sob a influência de diferentes tempos de imersão em hipoclorito de sódio no verão (janeiro/2011) e no inverno (julho de 2011), aos 20 dias após a inoculação.

Trat. (min.)	Verão			Inverno		
	Vivos (%)	Contaminados (%)	Oxidados (%)	Vivos (%)	Contaminados (%)	Oxidados (%)
T1) Sem HC	0,0 b	100,0 a	0,0 b	93,3 a	6,7 a	0,0 c
T2) 5 min.HC	90,0 c	10,0 b	0,0 b	90,0 a	10,0 a	0,0 c
T3) 10 min.HC	73,3 c	10,0 b	16,7 b	43,3 b	10,0 a	23,3 c
T4) 15 min.HC	43,3 a	10,0 b	46,7 a	53,3 b	0,0 a	46,7 a

Médias seguidas de mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível mínimo de significância de 5%.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados, nas condições em que foram realizados os experimentos pode-se concluir que:

1. O uso de hipoclorito de sódio comercial para a desinfestação de explantes foliares foi eficiente para a prevenção e controle de contaminações *in vitro* de explantes foliares de pinhão-manso.
2. No verão, o melhor tempo de imersão dos explantes em hipoclorito de sódio foi de 5 minutos, podendo-se utilizar o tempo máximo de 10 minutos.
3. No inverno, recomenda-se utilizar o tempo de 5 minutos, mesmo o não imersão no produto tenha obtido melhores resultados, para prevenir de potenciais contaminações *in vitro*.

LITERATURA CITADA

⁽¹⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP, email: edurlibert@gmail.com; ⁽²⁾ Prof. Titular Dr., Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP / Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽³⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP; ⁽⁴⁾ Prof. Titular Dr., Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP / Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁵⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁶⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁷⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP



ARRUDA, F. P. et al. Cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 789-799, 2004.

HEIFFIG, L. S.; CÂMARA, G. M. S. Potencial da cultura do pinhão-manso como fonte de matéria-prima para o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel. In: CÂMARA, G. M. S.; HEIFFIG, L. S. (Coords.) **Agronegócio de plantas oleaginosas: matérias-primas para biodiesel**. Piracicaba: ESALQ/USP/LPV, p. 105 – 12, 2006.

SATURNINO, H. M. et al. Cultura do pinhão manso (*Jatropha curcas*L.). **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.26 n.229 p.44-78, 2005.

NUNES, C. F. **Caracterização de frutos, sementes e plântulas e cultivo de embriões de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)**. Lavras, 2007. 78 f. Dissertação (Mestrado - Área de concentração em Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007. p. 732-742, 2010.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A.. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**, v.1. Brasília: Embrapa-SPI /Embrapa CNPH, p. 183-260, 1998.

⁽¹⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP, email: edurlibert@gmail.com; ⁽²⁾Prof. Titular Dr., Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP / Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽³⁾Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP; ⁽⁴⁾ Prof. Titular Dr., Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP / Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁵⁾Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁶⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽⁷⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP