



## **EFEITO DE DOSES DE THIDIAZURON NA BROTAÇÃO DE EXPLANTES FOLIARES DE *JATROPHA CURCAS* L.**

Carlos Vinicius Sanches<sup>(1)</sup>, Enes Furlani Junior<sup>(2)</sup>, Aline Namie Suzuki<sup>(3)</sup>, Luiz Corrêa De Souza<sup>(4)</sup>, Renata Capistrano Moreira Furlani<sup>(5)</sup>, João Édino Rosseto<sup>(6)</sup>, Luiz Paulo Penna<sup>(7)</sup>

### **RESUMO**

O pinhão-mansão (*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. A planta normalmente é propagada por sementes, mas também por estaquia de ramos. A micropropagação é uma técnica que permite obter de forma rápida grande quantidade de mudas a partir de um único indivíduo. O experimento foi realizado no Laboratório de Micropropagação pertencente à Faculdade de Engenharia da UNESP, Campus de Ilha Solteira – SP com o objetivo de analisar efeito de doses de thidiazuron (TDZ) no desenvolvimento de brotações em explantes foliares de pinhão-mansão. A primeira fase do experimento constituiu-se em indução dos explantes a formação de calo e depois de 30 dias, já com os calos formados, os explantes foram transferidos para um novo meio MS com os tratamentos que se constituíram de 5 doses de TDZ: 0,1 mg L<sup>-1</sup> de TDZ; 0,2 mg L<sup>-1</sup> de TDZ; 0,3 mg L<sup>-1</sup> de TDZ; 0,4 mg L<sup>-1</sup> de TDZ e 0,5 mg L<sup>-1</sup> de TDZ. Os explantes foram avaliados 40 dias após a inoculação. As doses de 0,1 mg L<sup>-1</sup> e 0,2 mg L<sup>-1</sup> de TDZ, combinadas com a dose de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, foram as que deram maior porcentagem de desenvolvimento de calos friáveis em explantes foliares de pinhão-mansão, concluindo-se que a dose de 0,1 mg L<sup>-1</sup> de TDZ é preferível, por apresentar boa porcentagem de desenvolvimento de calos, além de apresentar maior economia de reagentes.

**PALAVRAS CHAVE:** Pinhão-mansão, TDZ, calos, brotação.

## **EFFECT OF DOSES OF THIDIAZURON LEAF SPROUTING EXPLANTS OF *JATROPHA CURCAS* L.**

Carlos Vinicius Sanches<sup>(1)</sup>, Enes Furlani Junior<sup>(2)</sup>, Aline Namie Suzuki<sup>(3)</sup>, Luiz Corrêa De Souza<sup>(4)</sup>, Renata Capistrano Moreira Furlani<sup>(5)</sup>, João Édino Rosseto<sup>(6)</sup>, Luiz Paulo Penna<sup>(7)</sup>

<sup>(1)</sup> 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 e-mail: carlossanches91@gmail.com, <sup>(2)</sup> 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; <sup>(3)</sup> 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, <sup>(4)</sup> 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; <sup>(5)</sup> Doutorando - Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP / Campus de Ilha Solteira / SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP <sup>(6)</sup> 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; <sup>(7)</sup> Mestrando - Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP / Campus de Ilha Solteira / SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP.

## SUMMARY

The physic nut (*Jatropha curcas* L.) is a plant native to South America and widely distributed in South and Central America, Africa and Asia. The species is considered promising for the production of biodiesel by their high oil content. The plant is usually propagated by seeds, but also by cuttings of branches. Micropropagation is a technique that allows you to quickly lot of seedlings from a single individual. The experiment was conducted at the Laboratory of Micropropagation belonging to the Faculty of Engineering, UNESP, Ilha Solteira - SP with the aim of analyzing the effect of doses of thidiazuron (TDZ) in developing shoots on leaf explants of physic nut. The first phase of the experiment consisted in the induction of callus explant and after 30 days calli already formed, the explants were transferred to MS medium with a new treatments that constitute 5 TDZ : 0 1 mg L<sup>-1</sup> TDZ ; 0.2 mg L<sup>-1</sup> TDZ ; 0.3 mg L<sup>-1</sup> TDZ ; 0.4 mg L<sup>-1</sup> and 0.5 mg L TDZ - TDZ 1 . The explants were assessed 40 days after inoculation. Doses of 0.1 mg L<sup>-1</sup> and 0.2 mg L<sup>-1</sup> TDZ combined with 0.5 mg L<sup>-1</sup> of BAP were those that gave the highest percentage of development of friable callus on leaf explants *jatropha*, concluding that the dose of 0.1 mg L<sup>-1</sup> TDZ is preferred, by presenting good percentage of developing calluses, besides higher economy of reagents.

**KEY WORDS** : physic nut, TDZ, callus, shoot.

## INTRODUÇÃO

A crise do petróleo e o consequente aumento dos preços, a partir dos anos 70, somada a preocupação crescente com o efeito estufa, fizeram com que houvesse uma retomada na pesquisa e no uso de combustíveis alternativos. De acordo com Venturi e Venturi (2003), as culturas com a finalidade para a produção de energia podem ser classificadas em três grupos de acordo com o tipo de matéria-prima energética que pode ser obtida destas: etanol, derivado da fermentação de culturas ricas em celulose, açúcar e amido; biomassa, oriundos de espécies com alta produção de matéria seca, usada em processos como combustão, pirólise e gaseificação; e biodiesel, baseado em culturas vegetais, principalmente, oleaginosas das quais se extrai o óleo e o transesterifica.

O pinhão-mansão (*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 utilização do pinhão-mansão, 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).

Esta planta pode ser propagada via seminal, por estaquia, enxertia e por cultura de tecidos (NUNES, 2010; SATURNINO et al., 2005). A micropropagação é uma técnica da cultura de tecidos que permite obter de forma rápida grande quantidade de mudas saudáveis e de elevada qualidade genética a partir de um único indivíduo, em reduzido tempo e espaço. Um dos principais fatores para o sucesso de uma cultura perene é o emprego de mudas saudáveis. Tendo isto em vista, a propagação *in vitro* pode ser uma opção eficiente para a produção de mudas de pinhão-mansão com elevada qualidade genética e fitossanitária.

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).

### OBJETIVO

Analisar efeito de doses de thidiazuron (TDZ) no desenvolvimento de brotações em explantes foliares de *Jatropha curcas* L.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Micropropagação pertencente à Faculdade de Engenharia da UNESP, Campus de Ilha Solteira – SP.

A primeira fase do experimento foi realizada em agosto de 2011 e teve como objetivo induzir os calos em folhas jovens retiradas de plantas *Jatropha curcas* L. provenientes do cultivo em vaso. Para isso, utilizou-se meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com 2,0 mg de BAP (6-benzilaminopurina). As folhas foram lavadas em água corrente e detergente neutro. Após esse processo, as folhas passaram por assepsia dentro da câmara de fluxo laminar nas seguintes etapas:

- 1) Lavagem com álcool 70% por cinco minutos, seguida de tríplice lavagem com água destilada e autoclavada;
- 2) Lavagem com 300 mL de solução de hipoclorito de sódio comercial (2,0 a 2,5% p/p) por quinze minutos, seguida de tríplice enxágue com água destilada e autoclavada;

Após a assepsia, as folhas foram seccionadas em quadrados de 5 mm<sup>2</sup> e inoculadas em tubos contendo meio MS acrescido com 2,0 mg de BAP (6-benzilaminopurina), 30g L<sup>-1</sup> de sacarose e 2,8 g L<sup>-1</sup> de fitagel, com pH ajustado para 5,7 ± 0,1, antes da autoclavagem a 120 °C com 1 Kgf cm<sup>-2</sup> durante vinte minutos.

Após 30 dias, os explantes que apresentaram calos induzidos em meio MS suplementado com BAP que apresentavam maior potencial para o desenvolvimento de brotação, foram transferidos para um novo meio MS com diferentes doses de TDZ, para induzir o aumento ou desenvolvimento e formação de brotações. Os tratamentos desta segunda fase foram: 0,1 mg L<sup>-1</sup> de TDZ; 0,2 mg L<sup>-1</sup> de TDZ; 0,3 mg L<sup>-1</sup> de TDZ; 0,4 mg L<sup>-1</sup> de TDZ e 0,5 mg L<sup>-1</sup> de TDZ.

Todos os tratamentos foram acrescidos com 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, 30g L<sup>-1</sup> de sacarose e 2,8 g L<sup>-1</sup> de fitagel, com pH ajustado para 5,7 ± 0,1, antes da autoclavagem a 120 °C com 1 Kgf cm<sup>-2</sup> durante vinte minutos.

O estabelecimento foi realizado em sala de crescimento com temperatura 25 ± 1 °C. Os explantes foram avaliados 40 dias após a inoculação. As variáveis avaliadas foram percentagem de explantes com desenvolvimento de calos e de brotações. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos, quatro repetições e 7 tubos por repetição. Os dados foram avaliados no programa estatístico SISVAR e as médias comparadas através do teste de Tukey a 5% de significância.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na tabela 1 é possível observar a análise de variância feita para o desenvolvimento de calos em explantes foliares vivos de pinhão-manso. A tabela mostra que o valor de F (14,753) foi significativo (P<0,000), indicando que pelo menos um dos tratamentos diferiu dos demais.

**Tabela 01.** Tabela de análise de variância para desenvolvimento de calos em explantes foliares vivos de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), aos 40 dias após a inoculação .

Fonte de Variação	p > F
Tratamento	0,000
CV (%)	21,40

O desenvolvimento de calos friáveis nos explantes foliares de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) foi melhor nos tratamentos T1 (93,33%) e T2 (90,00%), não diferindo estatisticamente entre si (tabela 2). A superior potencialidade do TDZ sobre as citocininas do tipo das adeninas, em particular 6-benzilaminopurina e zeatina, ficou comprovada em bioensaios com cultura de calos de *Phaseolus* (MOK et al., 1980).

Kumar et al. (2010), ao inocularem explantes cotiledonares de *Jatropha curcas* em meio de cultura MS com adição dos fitorreguladores TDZ e BAP, obtiveram uma média de aproximadamente 93% de explantes com formação de gemas quando do uso de TDZ, sem adição de BAP. Deore e Johnson (2008) utilizaram discos foliares retirados de plantas de *Jatropha curcas* germinadas *in vitro* com dois meses de idade para indução de brotos e obtiveram maior porcentagem de explantes responsivos à indução de brotos quando utilizados combinações de TDZ com BAP e AIB.

As doses de 0,3 mg L<sup>-1</sup>, 0,4 mg L<sup>-1</sup> e 0,5 mg L<sup>-1</sup> também promoveram o desenvolvimento de calos friáveis, porém houve morte de explantes por vitrificação devido as altas concentrações de fitormônios, tornando estas combinações menos eficientes no desenvolvimento do calos.

**Tabela 02.** Porcentagem de explantes com desenvolvimento de calos friáveis, aos 40 dias após a inoculação, em diferentes doses de thidiazuron (TDZ).

Tratamento	Explantes com o desenvolvimento de calos friáveis (%)
T1) 0,1 mg L <sup>-1</sup> de thidiazuron	93,33 d
T2) 0,2 mg L <sup>-1</sup> de thidiazuron	90,00 cd
T3) 0,3 mg L <sup>-1</sup> de thidiazuron	66,67 bc
T4) 0,4 mg L <sup>-1</sup> de thidiazuron	53,33 ab
T5) 0,5 mg L <sup>-1</sup> de thidiazuron	40,00 a

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

Segundo VIRSCEK et al. (1994), o TDZ tem como inconveniência a ocorrência de altas taxas de vitrificação (hiperidricidade) quando presente em meio de proliferação. Schuchu (2002), em experimentos com macieira, relata que embora a porcentagem de regeneração tenha sido alta nas maiores concentrações (4,0 e 5,0mg.L<sup>-1</sup>), os explantes apresentavam vitrificação praticamente total. Nieuwkerk e Zimmerman (1986), que afirmam que alta concentração de TDZ causa necrose dos tecidos, vitrificação e crescimento anormal da folha.

## CONCLUSÕES

As doses de 0,1 mg L<sup>-1</sup> e 0,2 mg L<sup>-1</sup> de TDZ, combinadas com a dose de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, foram as que deram maior porcentagem de desenvolvimento de calos friáveis em explantes foliares de pinhão-manso.

A dose de 0,1 mg L<sup>-1</sup> de TDZ é preferível, por apresentar boa porcentagem de desenvolvimento de calos, além de apresentar maior economia de reagentes (regulador vegetal) para a instalação da cultura *in vitro*.

## LITERATURA CITADA

- 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.
- 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.
- KUMAR, N.; ANAND, K. G. V.; REDDY, M. P. Shoot regeneration from cotyledonary leaf explants of *Jatropha curcas*: a biodiesel plant. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 32, p. 917-924, 2010.
- MOK, D. W. S.; MOK, M. C.; ARMSTRONG, J. Cytokinin activity of N-phenyl-N'-1,2,3-Thiadiazol-5-yl urea and its effect on cytokinin autonomy in callus cultures of *Phaseolus*. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 65, n. 6, p. 24, jun. 1980. Abstract.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A resied medium for rapid growth and bioassays with tabaccotissue cultures. **Physiologia Plantarum**, 1962.
- NIEUWKERK, J.P.V.; ZIMMERMAN, R.H. Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation *in vitro*. **HortScience**, Alexandria, v. 21, n. 3, p. 516-518, 1986.
- 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.
- SATURNINO, H. M. et al. Cultura do pinhão manso (*Jatropha curcas*L.). **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.26 n.229 p.44-78, 2005.
- SCHUCH, MÁRCIA WULFF; PETERS, JOSÉ ANTONIO. Regeneração de brotações de macieira (*Malus domestica*, Borkh.) cv. Gala. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal, v. 24, n. 2, Aug. 2002. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-29452002000200006&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452002000200006&lng=en&nrm=iso)>. access on 29 Aug. 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452002000200006>.
- VENTURI, P., VENTURI, G. Analysis of energy comparison for crops in European agricultural systems. **Biomass & Bioenergy**, Silver Spring, v. 25, p. 235-255, 2003.