



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Ilha Solteira

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

ERICA RODRIGUES MOREIRA

MÉTODOS DE PROPAGAÇÃO DO PINHÃO MANSO
(Jatropha curcas L.)

Ilha Solteira

2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Ilha Solteira

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

ERICA RODRIGUES MOREIRA

MÉTODOS DE PROPAGAÇÃO DO PINHÃO MANSO

(Jatropha curcas L.)

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia -
UNESP – Campus de Ilha Solteira, para
obtenção do título de Doutor em Agronomia.
Especialidade: Sistemas de Produção

Prof^ª Dr^ª Aparecida Conceição Boliani
Orientadora

Ilha Solteira
2013

FICHA CATALOGRÁFICA

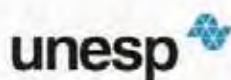
Elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da UNESP - Ilha Solteira.

M838m Moreira, Erica Rodrigues.
Métodos de propagação do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) / Erica Rodrigues
Moreira. – Ilha Solteira : [s.n.], 2013
116 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de
Ilha Solteira. Especialidade: Sistemas de Produção, 2013

Orientadora: Aparecida Conceição Boliani
Inclui bibliografia

1. Biodiesel. 2. Pinhão manso – Propagação. 3. Micropropagação. 4. Estacas.
5. Sementes.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ILHA SOLTEIRA

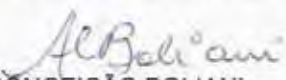
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

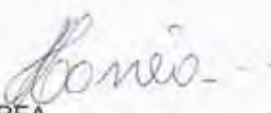
TÍTULO: Métodos de Propagação do Pinhão Manso (*Jatropha curcas* L.)


AUTORA: ERICA RODRIGUES MOREIRA

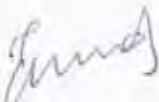
ORIENTADORA: Profa. Dra. APARECIDA CONCEIÇÃO BOLIANI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM AGRONOMIA ,
Área: SISTEMAS DE PRODUÇÃO, pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. APARECIDA CONCEIÇÃO BOLIANI
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira


Prof. Dr. LUIZ DE SOUZA CORREA
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira


Prof. Dr. ENES FURLANI JUNIOR
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira


Prof. Dr. ENIO TIAGO DE OLIVEIRA
Departamento de Ciências Biológicas / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Usp


Profa. Dra. FLÁVIA DIONÍSIO PEREIRA
Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais Cerrados / Instituto Federal Goiano

Data da realização: 13 de março de 2013.

DEDICO

Aos meus pais Juraci e Deni, pelo amor, carinho, dedicação, confiança e apoio em todos os momentos da minha vida;

Aos meus irmãos Luis Carlos, Tânia e Wanderlei que mesmo distantes sempre me apoiaram;

A minha cunhada Rosimeire pelo apoio e carinho;

Ao meu sobrinho e afilhado Leonardo, pelo carinho e amor.

Aos meus primos Cláudia e Júnior, e a tia Geni pela amizade, apoio e carinho.

A todos meus amigos que contribuíram para que mais esta vitória se tornasse realidade.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida.

A Universidade Estadual Paulista Campus de Ilha Solteira - SP, e a coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, especialidade “Sistema de Produção”, pela oportunidade de realização deste curso de doutorado, e aos professores do Programa de Pós-Graduação.

À Petrobrás e a Capes – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa.

A professora Dr^a Aparecida Conceição Boliani pela orientação, incentivo e amizade.

Ao professor Dr Luiz de Souza Corrêa pela amizade, colaboração que tornaram possível a realização deste trabalho.

Ao professor Dr Enes Furlani Júnior pela oportunidade e incentivo na realização deste trabalho.

Ao professor Dr Pedro César dos Santos pela colaboração nas análises estatísticas.

Ao funcionário José Hernandez pela amizade e colaboração na realização deste trabalho.

Aos funcionários da Seção de Pós-graduação e da Biblioteca.

Ao Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio- Economia.

Aos meus amigos: Aline Suzuki, Danilo Aires, Danila Comelis, Ednamar Palú, Elaine Viana, Flávia Mariano, Gustavo Pereira, Juliana Santos, Luis Lessi, Maria Cecília Cavallini, Maximiliano Pagliarini, Mauricio Nasser, Nídia Costa, Renata Furlani, Simone Hiraki, Veridiana Zocoler.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada...

"Ainda que os teus passos pareçam inúteis, vai abrindo caminhos, como a água que desce cantando da montanha. Outros te seguirão."

(Antoine de Saint-Exupéry)

MÉTODOS DE PROPAGAÇÃO DO PINHÃO MANSO (*Jatropha curcas* L.)

Autora: Erica Rodrigues Moreira

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Aparecida Conceição Boliani

RESUMO

A propagação do pinhão manso pode ser realizada via semente e vegetativa através de estacas e micropropagação. Quando realizada via semente, as plantas são mais vigorosas, porém iniciam a produção tardiamente. Utilizando-se estacas têm-se uma produção precoce e mantém as características da planta mãe, no entanto, verifica-se menor crescimento vegetativo inicial. Já a técnica da micropropagação pode produzir mudas saudáveis, em escala comercial com um curto período. Com isso objetivou-se com esta pesquisa, desenvolver protocolos para a propagação do pinhão manso via sementes, estaquia e micropropagação, visando à obtenção de mudas de qualidades. O projeto foi dividido em três partes: a primeira parte objetivou-se produzir plantas através de sementes, onde foram realizados testes pré-germinativos em diferentes substratos (comercial, vermiculita, areia); a segunda parte utilizou-se estacas, onde foram testadas partes do ramo (apical, mediana, basal) e diferentes substratos (comercial Bioplant[®], vermiculita, areia) em duas épocas, agosto/2011 e março/2012. Na terceira parte foram desenvolvidas técnicas de micropropagação, envolvendo as etapas de assepsia dos explantes *in vitro* através do controle de contaminação utilizando concentrações de cloro ativo e tempo de imersão, problemas frequentes que inviabilizam a utilização da micropropagação para espécies lenhosas, como o pinhão manso; etapa de desenvolvimento onde estudou concentrações da citocinina 6-Benzilaminopurina (BAP) e dos sais do meio de cultivo Murashige e Skoog (1962) (MS); e a fase de enraizamento *in vitro* utilizando concentrações do ácido indol butírico (AIB). Concluiu-se que na propagação por sementes o melhor tratamento pré-germinativo foi a escarificação mecânica + imersão em água por 12 horas, e o uso do substrato comercial e vermiculita; quando se utilizou a estaquia a melhor época para a propagação foi agosto, e as estacas da parte basal e o uso dos substratos: vermiculita e comercial são eficientes para produção de mudas de pinhão manso; na micropropagação o uso do cloro ativo na concentração de 2,5% durante 2,5 minutos foi eficiente no controle de contaminação por fungos e na porcentagem de explantes sobreviventes. Porém devido a 100% de contaminação por bactéria, recomenda-se realizar novos experimentos em épocas diferentes e/ou a utilização de agentes com ação bactericida; no crescimento de gemas apicais

o meio de cultivo MS com 100% dos sais e a adição do regulador vegetal BAP proporcionou as maiores porcentagens de gemas apicais vivas e desenvolvidas; e para o enraizamento o meio de cultura MS com 50% dos sais e a adição de $0,50\text{mg L}^{-1}$ AIB proporcionou maior porcentagem de enraizamento e número médio de raízes, e não formou calo.

Palavras-chave: Biodiesel. Micropropagação. Estacas. Sementes.

METHODS OF PROPAGATION PHYSIC NUT (*Jatropha curcas* L.)

Author: Erica Rodrigues Moreira

Adviser: Prof^a Dr^a Aparecida Conceição Boliani

ABSTRACT

The propagation of physic nut can be realized by seed, vegetative by cuttings and micropropagation. When performed by seed, plants are more vigorous but begin production late. Using cuttings have an early production and keeps the characteristics of the parent plant, however, there is less initial vegetative growth. Since the technique of micropropagation can produce healthy seedlings in commercial scala with a short period. Therefore, objective was the research, develop protocols for the propagation of physic nut seeds, cuttings and micropropagation, in order to obtain seedlings qualities. The project was divided into three parts: the first part the objective was to produce plants by seed, where tests were performed pre-germination on different substrates (commercial, vermiculite, sand), the second part was used cuttings, where they were tested parts of the branch (apical, middle, basal) and different substrates (commercial, vermiculite, sand) in two seasons, from August/2011 and March/2012. In the third part have been developed of micropropagation techniques, involving the stages of aseptic explants *in vitro* through contamination control using active chloro concentrations and time of immersion, frequent problems that hinder the use of micropropagation for woody species, like physic nut, development studying concentrations of cytokinin 6-benzylaminopurine (BAP) and salts of Murashige e Skoog (1962) (MS) medium and *in vitro* rooting concentrations of auxin indol butyric acid (IBA). It was concluded that the best seed propagation pre-germinative treatment was mechanical scarification + immersion in water for 12 hours, and the use of commercial substrate and vermiculite when using the cuttings the best time for propagation was August, and cuttings from the basal portion of the substrates and the use vermiculite and commercial are themselves to efficient production of physic nut seedlings, the use of micropropagation in active chlorine concentration of 2.5% for 2.5 minutes was effective in controlling fungal contamination and the percentage of explants survived. However because of 100% contamination by bacteria, it is recommended to carry out further experiments at different times and / or use of bactericidal agents; in growth apical buds the culture medium MS with 100% of the salts and the addition of plant growth regulator BAP gave the highest percentage of apical buds alive and

developed, and rooting for the MS medium with 50% of the salts and the addition of 0.50 mg L⁻¹ IBA provided greater rooting percentage and average number of roots, and not formed callus.

Key words: Biodiesel. Micropropagation. Cuttings. Seeds.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Plantas cultivadas em vasos (A), folhas (B), inflorescência (C), fruto verde (D), fruto seco (E) e sementes (F) de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Ilha Solteira - SP, 2012.21
- Figura 2** - Aspecto geral do experimento com tratamentos pré-germinativos com sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) em diferentes substratos. Ilha Solteira – SP, 2011. (Substratos: A=comercial, B=vermiculita, C=areia)..... 50
- Figura 3** - Crescimento de plântulas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) nos substratos: A=comercial, B=areia, C=vermiculita. Ilha Solteira – SP, 2011..... 57
- Figura 4** - Aspecto geral do experimento com estacas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Ilha Solteira – SP, 2011. (A=estaca basal, apical, mediana e comercial Bioplant[®], B= basal, apical, mediana e vermiculita, C=basal, apical, mediana e areia)..... 68
- Figura 5** - Explante de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) *in vitro* contaminado por bactéria. Ilha Solteira – SP, 2011..... 89
- Figura 6** - Explantes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) *in vitro* contaminados por fungos. Ilha Solteira – SP, 2011..... 90
- Figura 7** - Gema apical de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) em crescimento em meio de cultura MS + 0,1mg L⁻¹ BAP. Ilha Solteira – SP, 2012. 101
- Figura 8** - Explantes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) em meio de cultivo ½MS + 0,25mg L⁻¹ AIB (A) ½ MS 0,50mg L⁻¹ AIB (B), e ½ MS + 1,0mg L⁻¹ AIB, com enraizamento. Ilha Solteira – SP, 2012..... 112

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1-** Quadrados médios e níveis de significância das características avaliadas de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a tratamentos pré-germinativos e substratos. (GER= porcentagem de germinação, IVG = índice de velocidade de germinação, TMG = tempo médio de germinação, CP = comprimento médio da plântulas, DC = diâmetro de caule) Ilha Solteira - SP, 2011. . 52
- Tabela 2 -** Porcentagem de germinação de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a tratamentos pré-germinativos e substratos. Ilha Solteira – SP, 2011. 53
- Tabela 3 -** Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a tratamentos pré-germinativos e substratos. Ilha Solteira - SP, 2011. 54
- Tabela 4 -** Tempo médio de germinação (TMG) de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a tratamentos pré-germinativos e substratos. Ilha Solteira - SP, 2011. 55
- Tabela 5 -** Valores médios de comprimento, diâmetro de caule e índice SPAD de plântulas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Ilha Solteira - SP, 2011..... 58
- Tabela 6 -** Quadrados médios e níveis de significância das características avaliadas de plântulas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e substratos. (MFPA= massa fresca da parte aérea, MSF = massa seca da parte aérea, MFR = massa fresca da raiz, MSR = massa seca raiz). Ilha Solteira – SP, 2011..... 59
- Tabela 7 -** Valores médios em gramas para massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa fresca da raiz (MSR) e massa seca da raiz (MSR) de plântulas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e substratos. Ilha Solteira - SP, 2011. 60
- Tabela 8 -** Quadrados médios e níveis de significância de porcentagem de estacas sobreviventes (ES), porcentagem de estacas enraizadas (ER), números de brotos (BR), número de folhas (F), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa fresca da raiz (MFR) e massa seca da raiz (MSR) de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) propagadas em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012. 70

Tabela 9 -	Porcentagem de estacas sobreviventes de pinhão manso (<i>Jatropha curcas</i> L.) submetidas a substratos em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012.....	71
Tabela 10 -	Porcentagem de estacas enraizadas de pinhão manso (<i>Jatropha curcas</i> L.) submetidas a substratos em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012... 72	72
Tabela 11 -	Número médio de brotos por estacas de pinhão manso (<i>Jatropha curcas</i> L.) submetidas a substratos em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012.....	74
Tabela 12 -	Média de números de folhas por estaca de pinhão manso (<i>Jatropha curcas</i> L.) submetidas a substratos em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012.....	75
Tabela 13 -	Média em gramas de massa fresca da parte aérea por estacas de pinhão manso (<i>Jatropha curcas</i> L.) submetidas a substratos em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012.	76
Tabela 14 -	Média em grama de massa seca da parte aérea de estacas de pinhão manso (<i>Jatropha curcas</i> L.) submetidas a substratos em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012.	77
Tabela 15 -	Média em gramas de massa fresca de raízes de estacas de pinhão manso (<i>Jatropha curcas</i> L.) submetidas a substratos em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012.	78
Tabela 16 -	Média em gramas de massa seca de raízes de estacas de pinhão manso (<i>Jatropha curcas</i> L.) submetidas a substratos em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012.....	79
Tabela 17 -	Quadrados médios da análise de variância e níveis de significância referentes à porcentagem de contaminação por bactérias e fungos, e porcentagem de explantes vivos de pinhão manso (<i>Jatropha curcas</i> L.). Ilha Solteira - SP, 2011.	88
Tabela 18 -	Porcentagem de explantes de pinhão manso (<i>Jatropha curcas</i> L.) contaminados por bactéria, fungos e vivos. Ilha Solteira – SP, 2012.....	88
Tabela 19 -	Composição dos meios nutritivos MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e metade da concentração dos sais do MS*	98

Tabela 20 -	Quadrados médios da análise de variância e níveis de significância referentes à porcentagem de explantes vivos e porcentagem de gemas desenvolvidas de pinhão manso (<i>Jatropha curcas</i> L.). Ilha Solteira - SP, 2012.....	99
Tabela 21 -	Porcentagem de gemas sobreviventes e gemas crescidas de pinhão manso (<i>Jatropha curcas</i> L.). Ilha Solteira – SP, 2012.....	100
Tabela 22 -	Quadrados médios da análise de variância e níveis de significância referentes à porcentagem de explantes enraizados, número médio de raízes e porcentagem de calos em explantes de pinhão manso (<i>Jatropha curcas</i> L.). Ilha Solteira - SP, 2012.....	110
Tabela 23 -	Porcentagem de explantes enraizados, número médio de raízes e porcentagem de calos em explantes de pinhão manso (<i>Jatropha curcas</i> L.). Ilha Solteira – SP, 2012.....	111

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1	ORIGEM E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DO PINHÃO MANSO	19
2.2	CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA E DESENVOLVIMENTO DA PLANTA	20
2.3	PROPAGAÇÃO DO PINHÃO MANSO	22
2.3.1	Propagação por semente	22
2.3.2	Propagação por estaquia	25
2.3.3	Micropropagação	28
2.4	USO DE SUBSTRATOS NA PROPAGAÇÃO DE PLANTAS	32
	REFERÊNCIAS	34
3	TRATAMENTOS PRÉ-GERMINATIVOS E SUBSTRATOS NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E QUALIDADE DE MUDAS DE PINHÃO MANSO (<i>Jatropha curcas</i> L.)	46
3.1	INTRODUÇÃO	48
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	49
3.2.1	Caracterização do experimento	49
3.2.2	Tratamentos Utilizados	50
3.2.3	Variáveis Avaliadas	50
3.2.4	Delineamento experimental e análise estatística	51
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
3.4	CONCLUSÕES	60
	REFERÊNCIAS	60
4	ÉPOCAS, TIPOS DE ESTACA E SUBSTRATOS NA PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DO PINHÃO MANSO (<i>Jatropha curcas</i> L.)	64
4.1	INTRODUÇÃO	66
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	67
4.2.1	Caracterização do experimento	67
4.2.2	Tratamentos Utilizados	68
4.2.3	Variáveis Avaliadas	68
4.2.4	Delineamento experimental e análise estatística	69
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	69

4.4	CONCLUSÕES	79
	REFERÊNCIAS.....	79
5	DESINFESTAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE GEMA APICAL DE PINHÃO MANSO (<i>Jatropha curcas</i> L.): TEMPOS DE IMERSÃO E CONCENTRAÇÕES DE CLORO ATIVO	83
5.1	INTRODUÇÃO	85
5.2	MATERIAL E MÉTODOS	86
5.2.1	Obtenção do Material Vegetal.....	86
5.2.2	Assepsia	87
5.2.3	Estabelecimento <i>in vitro</i>	87
5.2.4	Variáveis Avaliadas	87
5.2.5	Delineamento experimental e Análise estatística	87
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	88
5.4	CONCLUSÕES	91
	REFERÊNCIAS.....	91
6	CRESCIMENTO <i>IN VITRO</i> DE GEMAS APICAIS DE PINHÃO MANSO (<i>Jatropha curcas</i> L.)	93
6.1	INTRODUÇÃO	95
6.2	MATERIAL E MÉTODOS	96
6.2.1	Obtenção do material vegetal.....	96
6.2.2	Assepsia	97
6.2.3	Estabelecimento <i>in vitro</i>	97
6.2.4	Variáveis avaliadas	99
6.2.5	Delineamento experimental e análise estatística	99
6.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	99
6.4	CONCLUSÕES	102
	REFERÊNCIAS.....	102
7	ENRAIZAMENTO <i>IN VITRO</i> DE GEMAS APICAIS DE PINHÃO MANSO (<i>Jatropha curcas</i> L.)	105
7.1	INTRODUÇÃO	107
7.2	MATERIAL E MÉTODOS	108
7.2.1	Obtenção do material vegetal.....	108

7.2.2	Assepsia	109
7.2.3	Ensaio utilizado.....	109
7.2.4	Variáveis avaliadas	109
7.2.5	Delineamento experimental e análise estatística	110
7.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	110
7.4	CONCLUSÕES	113
	REFERÊNCIAS.....	113
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	116

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a principal matéria-prima para produção de biodiesel encontra-se entre plantas oleaginosas dentre elas está o pinhão manso (BILICH; SILVA, 2006). Estima-se que existam cerca de 50 mil ha plantados com pinhão manso no Brasil, onde 30 mil ha estão entre os grandes e médios produtores, e 20 mil ha na agricultura familiar (DURÃES et al., 2009).

A sua utilização como matéria-prima para a produção de biodiesel, vem sendo amplamente discutida e avaliada, podendo ser implantada em todas as regiões brasileiras (HEIFFIG; CÂMARA, 2006).

O ciclo produtivo do pinhão manso muda de acordo com a forma de plantio. Pode ser propagado via sementes ou vegetativamente. Na propagação através de sementes, as plantas tem maior variabilidade genética em relação à planta mãe, são mais vigorosas mesmo que iniciem a produção mais tardiamente (SEVERINO et al., 2006). Em condições adequadas de produção, a planta propagada por sementes pode alcançar cerca de 30 a 50 anos (CORTESÃO, 1956).

Para evitar a grande variabilidade encontrada em plantas obtidas a partir de sementes, uma solução é a propagação vegetativa, pois esta técnica permite manter características desejáveis da planta mãe para produção de mudas de qualidade (GERALD et al., 2006). A via vegetativa do pinhão manso se estabelece por estaquias, enxertia e micropropagação ou cultura de tecidos vegetais (SATURNINO et al., 2005).

Quando propagado por estacas, o início do ciclo produtivo do pinhão manso depende principalmente das dimensões da estaca (NUNES, 2007). Devem-se utilizar estacas obtidas de plantas sadias, com as qualidades desejáveis para uma boa produtividade (PEIXOTO, 1973).

Para o sucesso da propagação via semente ou estaca a escolha do substrato é um fator importante. De acordo com Nogueira et al. (2003), o substrato influencia diretamente a germinação, em função de sua estrutura, aeração, capacidade de retenção de água, podendo favorecer ou prejudicar a germinação das sementes. Para que o processo de enraizamento tenha sucesso, o substrato deve possuir qualidades que auxiliem a iniciação radicial nas estacas, proporcionando suporte para a estaca durante o enraizamento (PAIVA; GOMES, 1993). Essa escolha depende da espécie, tipo da estaca e estação do ano, porém em todos os casos o substrato deve proporcionar umidade, facilidade de trocas gasosas e penetração das raízes, sendo relativamente livre de contaminações (JANICK, 1966).

Já a propagação utilizando a micropropagação tem como principais vantagens o aumento rápido do número de indivíduos e a possibilidade de conservação de germoplasma

(ECHEVERRIGARAY et al., 2001). No Brasil a micropropagação vem sendo muito utilizada, permitindo com isso que os agricultores tenham acesso rápido as mudas de qualidades (ALVES et al., 2005).

Levando-se em consideração que os trabalhos com propagação do pinhão manso são poucos, e é cada vez mais crescente a importância econômica da cultura, estudos nessa área se fazem necessários.

Considerando o exposto, objetivou-se desenvolver protocolos para a propagação do pinhão manso via sementes e estaquia utilizando diferentes substratos e utilizando a técnica da micropropagação, visando à obtenção de mudas qualidades, em escala comercial em um curto período de tempo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ORIGEM E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DO PINHÃO MANSO

O centro de origem do pinhão manso ainda é incerto, mas acredita-se ser o México ou a América Central (HELLER, 1996). Foi introduzido nas ilhas de Cabo verde em 1783 onde mais tarde foi disseminado para todas as regiões tropicais, ocorrendo em vários países como Índia, Cabo Verde, Malásia, Tailândia, Filipinas, além de algumas regiões do Brasil (CORTESÃO, 1956).

De acordo com Heller (1996), a planta está predominantemente presente em regiões onde a precipitação média anual é de 300 a 1000 mm. No entanto, segundo Foidl et al. (1996) a cultura do pinhão manso pode ser encontrada em condições de precipitação média anual variando de 250 a 3000 mm.

No continente americano o pinhão manso é cultivado desde a época pré-colombiana, sendo encontrado também nas regiões tropicais e algumas temperadas. Contudo, o pinhão manso ainda encontra-se em processo de domesticação (SARTUNINO et al., 2005).

O pinhão manso apresenta valor econômico nos países como Guiné, Moçambique, nas Antilhas Britânicas, Filipinas, México, Porto Rico, Venezuela e El Salvador, sendo o Arquipélago de Cabo Verde e em Angola os principais produtores e exportadores mundiais de sementes desta cultura (ALVES et al., 2008).

Na Índia identificaram no pinhão manso atributos necessários para sustentar o cumprimento das metas dispostas na Política Nacional (JAIN; SHARM, 2010; LIAQUAT et al., 2010), com o objetivo de plantar mais de 12 milhões de hectares até o final de 2012 (GAIN REPORT, 2010; GOI, 2004; ZHOU; THOMSON, 2009).

No Brasil, o pinhão-manso adaptou-se às diferentes condições edafoclimáticas, e sua distribuição geográfica ocorre principalmente nos estados do Nordeste, Goiás e Minas Gerais (DRUMMOND et al., 1984; EPAMIG, 2003). No Nordeste, o pinhão manso cresce espontaneamente, principalmente nas regiões mais secas do semi-árido, sendo considerada uma opção agrícola para essa região por ser uma espécie com resistência à seca (ARRUDA et al., 2004).

O interesse na produção de *J. curcas* no Brasil surgiu com a implantação do Plano Nacional de Produção de Biodiesel. Contudo, os plantios comerciais ainda estão em fase inicial de implantação e domesticação de espécies. Espera-se que a cultura passe a ser uma matéria-prima para o mercado de biodiesel (ANDRÉO-SOUZA et al., 2010).

Cidades da Zona da Mata, Viçosa e Senador Firmino, produziram em 2010, respectivamente, 600 e 250 Kg de sementes por hectare de pinhão manso em plantas com 5 anos de idade (JCL, 2011). No Vale do Paraíba, a APTA registrou em 2010 a produção de cerca de 300 Kg de sementes secas por hectare (CASTRO, 2010). Estes resultados são baixos em relação à produção esperada para plantas com esta idade, em torno de 6000 kg por ha obtidos no exterior (ACHTEN et al., 2008).

2.2 CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA E DESENVOLVIMENTO DA PLANTA

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) pertence à família Euphorbiaceae. O gênero *Jatropha* possui 175 espécies distribuídas pela América Tropical, Ásia e África (AUGUSTUS et al., 2002).

A espécie *Jatropha curcas* L. (pinhão-manso) também é conhecida como pinhão do Paraguai, purgueira, pinha-de-purga, grão-de-maluco, pinhão-de-cerca, figo-do-inferno, pinhão-das-barbadas, dentre outros (DRUMMOND et al., 1984).

O pinhão manso é uma planta arbustiva, de crescimento rápido, cuja altura pode atingir dois a três metros, podendo alcançar até cinco metros ou mais, com diâmetro do tronco de 20 cm (BRASIL, 1985; CORTESÃO, 1956) (Figura 1).

É uma planta monóica, isto é, possui flores de sexo separado, porém na mesma planta. As flores são pequenas de coloração amarelo-esverdeadas. As flores masculinas são em maior número, estando localizadas nas extremidades superiores das ramificações, enquanto que as flores femininas são menos numerosas, e se encontram nas ramificações. O período da florada é longo, sendo a polinização feita por abelhas e outros insetos. As folhas são verde-escuras e brilhantes, largas e alternas. Em períodos de seca ou em estação fria, as folhas caem total ou parcialmente (ARRUDA et al., 2004).

Os frutos são cápsulas ovóides, achatadas nas extremidades com diâmetro de 1,5 a 3,0 cm pesando em torno de 1,5 a 2,8g (CÂMARA; HEIFFIG, 2006).

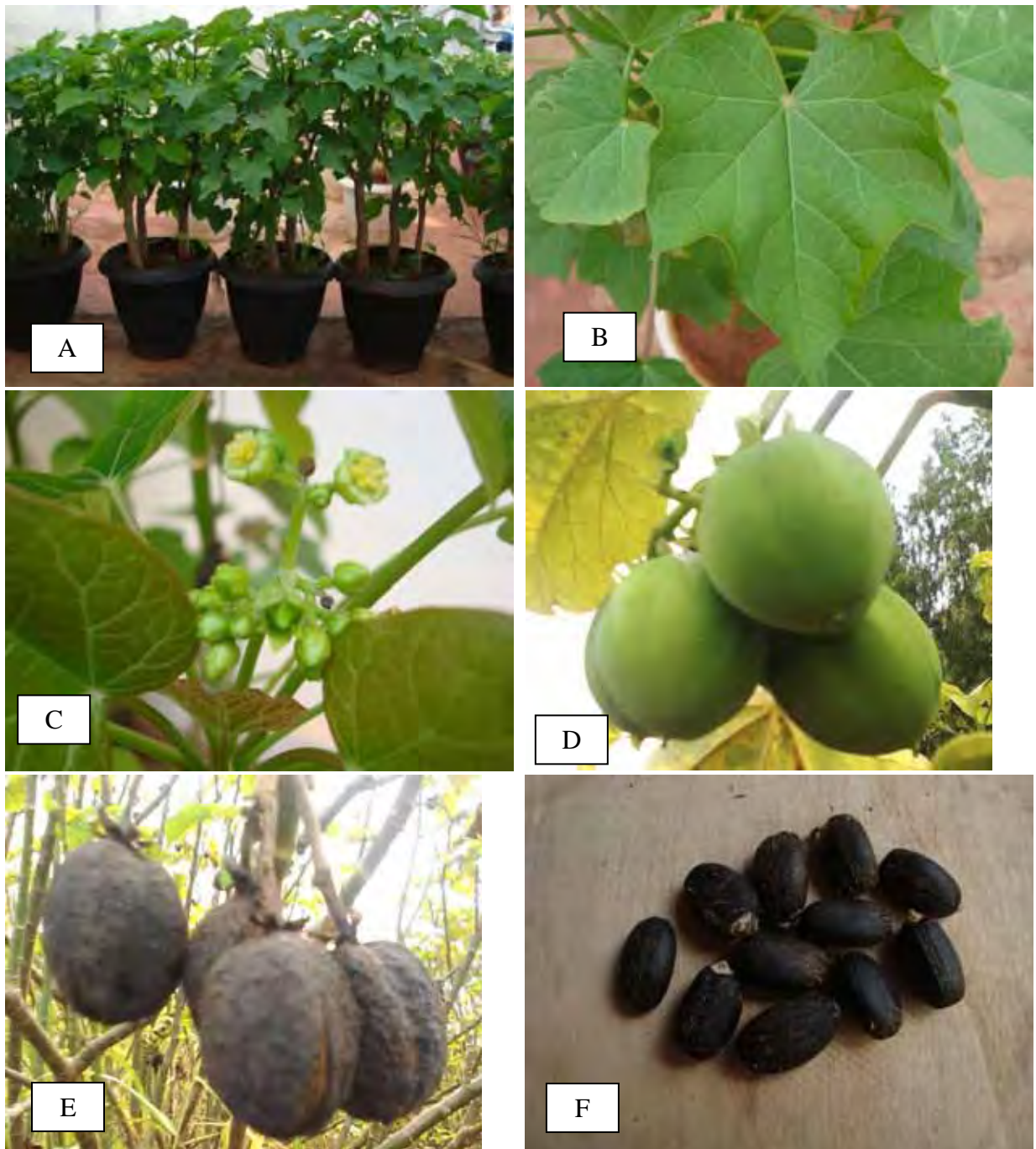
A semente é ovalada, endospermica, com tegumento rijo, quebradiço, de fratura resinosa. Quando secas, apresentam de 1,5 a 2,0 cm de comprimento e 1,0 a 1,5cm de largura, e o teor de óleo na semente varia de 35% a 40% (SATURNINO et al., 2005). O óleo da semente é potencialmente valioso, podendo ser uma ótima solução para a produção de biodiesel (OPENSHAW, 2000).

O sistema radicular do pinhão manso é do tipo pivotante, cuja raiz principal atinge grandes profundidades. Apresenta grande quantidade de raízes laterais, responsáveis pela

nutrição da planta. As plantas podem atingir porte alto e médio, com caule ramificado com coloração verde (AVELAR, 2006).

A planta inicia a produção aos oito meses, atingindo a máxima aos quatro anos, produzindo de duas a três toneladas de sementes por hectare em condições semi-áridas, podendo se estender por 40 anos (CARNIELLI, 2003).

Figura 1- Plantas cultivadas em vasos (A), folhas (B), inflorescência (C), fruto verde (D), fruto seco (E) e sementes (F) de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Ilha Solteira - SP, 2012.



Fonte: Elaboração da própria autora

2.3 PROPAGAÇÃO DO PINHÃO MANSO

A propagação do pinhão manso pode ser realizada por sementes, estacas, enxertia e micropropagação (SATURNINO et al., 2005). De acordo com Nunes (2007), as características genéticas, a formação, o vigor e a sanidade das mudas são fatores primordiais para a obtenção de plantas com uma boa produtividade.

Plantas obtidas de sementes e plantadas diretamente no solo apresentam crescimento mais lento que aquelas produzidas por estacas, no entanto, apresentam maior longevidade. Na Índia o principal meio de propagação do pinhão manso é através de sementes (HELLER, 1996), porém estudos com a micropropagação estão sendo realizados.

2.3.1 Propagação por Semente

A propagação via semente tem a vantagem de gerar indivíduos mais vigorosos e de maior longevidade, porém, tem como desvantagem o fato da espécie ter altos índices de polinização cruzada, o que determina elevada variabilidade genética nos cultivos seminais (NUNES, 2007).

As mudas produzidas via semente não tem a raiz principal tornando-se menos tolerantes a seca, contudo essas mudas produzem falsas raízes principais que penetram somente metade que a raiz principal pode penetrar no solo (KUMAR; SHARMA, 2008).

Para a produção de mudas através de sementes, estas devem ser obtidas de plantas vigorosas, saudáveis e com boa produtividade (ALVES et al., 2008). No entanto, após alguns meses de armazenamento, ocorrem problemas de irregularidades na germinação e perda do poder germinativo (SEVERINO et al., 2006).

Para que uma semente viável possa germinar são necessários: suprimento de água em quantidade suficiente; temperatura e uma composição de gases adequada, bem como de luz para determinadas espécies (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). A germinação das sementes é um processo que envolve o reinício e a continuidade das atividades metabólicas, promovendo o desenvolvimento das estruturas do embrião, com a formação de uma plântula (NOVEMBRE et al., 2007).

A primeira fase da germinação é a embebição, que consiste na absorção de água pelas sementes, ocorrendo aumento de volume e peso das sementes e conseqüentemente o início dos processos fisiológicos (CREPALDI et al., 1998).

Segundo pesquisas realizadas por Jocker e Jepsen (2003), as sementes de pinhão manso, quando armazenadas em temperatura ambiente, podem manter-se viáveis por, pelo menos um ano; todavia, devido ao seu conteúdo de óleo não é recomendado um armazenamento prolongado porque as sementes oleaginosas são mais suscetíveis ao ataque de patógenos e pode ocorrer a rancificação dos ácidos graxos que compõem o óleo. Saturnino et al. (2005) explicam que a diminuição da capacidade germinativa que ocorre durante o período de armazenamento à temperatura ambiente é devido a um processo de deterioração que ocorre gradativamente durante o tempo de estocagem.

Algumas sementes não germinam mesmo quando colocadas sob condições ambientais favoráveis. Tais sementes são classificadas como dormentes, fenômeno que ao mesmo tempo se constitui num mecanismo eficiente para garantir a sobrevivência e a perpetuação da espécie, mas também pode levar ao atraso e a desuniformidade na germinação, uma vez que as sementes apresentam algum tipo de restrição (CARDOSO, 2004; MARCOS FILHO et al., 1987).

A dormência pode ser superada com a utilização de tratamentos pré-germinativos, uma vez que são aplicados às sementes para estimular seu metabolismo e promover o processo de germinação (ROVERSI et al., 2002). A escarificação mecânica se constitui em um método simples e de baixo custo. É realizada pelo atrito da semente com uma superfície abrasiva, geralmente uma lixa, e tem por objetivo rasurar ou enfraquecer o tegumento, permitindo, desta forma, a entrada de água para o início do processo de germinação (SMIDERLE; SOUZA, 2003).

Estudos realizados por Niranjana et al. (2010) com teste de germinação em sementes de três acessos de pinhão manso na Índia, com os tratamentos: semente sem tratamento, imersão em água fria por 12 horas, imersão em água quente (50 °C) por 15 minutos e imersão em água quente (60 °C) por 15 minutos, após 30 dias da semeadura obtiveram melhor resultado quando as sementes foram imersas em água fria por 12 horas (62%) diferindo dos demais tratamentos (51, 44,43, 44,43%, respectivamente).

De acordo com Sharma (2007) sementes de pinhão manso imersas em água por 12 ou 24 horas aumentam a taxa de germinação. Já Arruda et al. (2007) avaliaram o efeito da embebição e do processo de escarificação na germinação de sementes de pinhão-manso e verificaram que a embebição contribui para a germinação de sementes com tegumento.

Em estudos realizados por Mendes et al. (2009), os tratamentos pré-germinativos contribuíram para aumentar a porcentagem de germinação das sementes de mamona, sendo

que escarificação com lixa e a remoção da carúncula ou do tegumento foram os mais eficientes sem imersão em água.

Nesse sentido, Silva et al. (2007) estudaram a superação de dormência em sementes de pinhão-manso através da imersão das mesmas em água por 24 horas, imersão em ácido giberélico, em ácido sulfúrico e remoção do tegumento. Os autores concluíram que as sementes não apresentaram dormência podendo ser plantadas sem nenhum pré-tratamento. Por outro lado, estudos realizados por Barros et al. (2007) mostraram que sementes de pinhão manso deixadas embebidas em água por doze horas antes de serem semeadas, apresentam parte aérea maior, pelo menos nos primeiros vinte dias após a germinação.

Em algumas regiões da Índia Ye et al. (2009), relataram que as porcentagens de germinação das sementes de pinhão manso são altas, estando em torno de 80 a 90%.

Em trabalhos realizados por Silva et al. (2008) com sementes de pinhão manso, foram encontrados valores de índice de velocidade de germinação (IVG) de 1,86 para sementes com tegumento, e para sementes sem tegumento o IVG foi de 1,06.

Pesquisas realizadas com tratamentos pré-germinativos de sementes de Jatobá e diferentes substratos, permitiram concluir que o tratamento escarificação mecânica mais imersão em água por 24h em substrato comercial, apresentou maior IVG comparado aos demais tratamentos (PAGLIARINI, 2011).

De acordo com Camargo et al. (2010), estudos mostraram com relação à produção de biomassa da parte aérea, na ausência do tratamento de semente, o maior acúmulo de matéria seca, e para o peso seco de raízes não houve diferença significativa para o fator tratamento de semente.

Segundo Elias et al. (2006) quando a emergência ocorre rapidamente, produzindo plântulas normais e vigorosas e promovendo a redução do período juvenil, mais rápido a muda estará apta para ir ao campo e se adaptar as condições adversas do meio. Segundo os mesmos autores, a demora na germinação e desenvolvimento da plântula também contribui com o aumento dos custos de produção, sendo necessário um maior número de sementes para obter uma maior uniformidade e um maior tempo de permanência na sementeira para se ter um determinado estande.

De acordo com Nunes (2007) as mudas oriundas de sementes devem permanecer na sementeira até atingirem cerca de 8 a 12 cm de altura, quando passam pela fase de transição de herbácea para lenhosa, posteriormente, serem transplantadas para o viveiro ou diretamente para o campo de cultivo.

2.3.2 Propagação por estaquia

A propagação vegetativa ou assexuada é uma técnica utilizada para reproduzir uma planta geneticamente idêntica à planta matriz. Isso ocorre porque as células contêm, em seus núcleos, a informação necessária para gerar uma nova planta (GRAÇA et al., 2000). É considerada a técnica de maior viabilidade econômica para o estabelecimento de plantios clonais, pois permite a multiplicação dos genótipos selecionados em curto período de tempo e a um baixo custo (PAIVA; GOMES, 2005). Essa técnica faz com que ocorra a eliminação ou redução da fase juvenil das plantas cultivadas, possibilitando maior uniformidade e número de mudas produzidas a partir de uma planta matriz (JANICK, 1966).

O termo estaquia é usado para designar o processo de propagação no qual ocorre indução do enraizamento adventício em segmentos destacados da planta mãe que, em condições favoráveis, originam uma nova planta. Já o termo estaca é utilizado para designar qualquer segmento de uma planta, com pelo menos uma gema vegetativa, capaz de originar uma nova planta, podendo haver estacas de ramos, raízes e folhas (FACHINELLO et al., 1995).

De acordo com o estágio de crescimento, as estacas podem ser classificadas como, herbáceas, semilenhosas e lenhosas. As herbáceas apresentam alta atividade meristemática e baixo grau de lignificação, as semilenhosas provêm de ramos não-lignificados oriundos de plantas lenhosas e as lenhosas apresentam alto grau de regeneração potencial e são altamente lignificadas (FACHINELLO et al., 2005).

A utilização dessa técnica é uma realidade em várias empresas de viveiros, onde é considerada estratégica por aliar a qualidade da muda à redução dos custos de produção. Esse tipo de tecnologia torna-se fundamental para a multiplicação de genótipos desejados em um curto espaço de tempo (SANTOS et al., 2005). Suas desvantagens incluem a dificuldade de se induzir a produção de raízes adventícias em muitas espécies, bem como a diminuição da capacidade de enraizamento (NEVES et al., 2005).

Como o pinhão manso ainda não passou pelo processo de melhoramento, a propagação assexuada é a solução para contornar o problema da desuniformidade genética. A utilização da reprodução vegetativa facilita o trabalho do melhorista, pois, uma vez identificado uma planta considerada superior, ela pode ser propagada, mantendo a sua identidade genética (BORÉM, 1997). O sucesso dessa técnica depende da facilidade de enraizamento de cada espécie, da qualidade do sistema radicular formado e do desenvolvimento posterior da planta (OLIVEIRA et al., 2001).

A utilização da estaquia em pinhão manso resulta em crescimento rápido da planta, podendo-se esperar o início da produção de frutos um ano após o plantio. Entretanto, a viabilidade da propagação comercial de mudas por estaquia depende da capacidade de enraizamento de cada espécie e da qualidade das raízes formadas, a fim de proporcionar um melhor desenvolvimento da planta (NEVES et al., 2005).

Segundo Severino et al. (2007) a propagação vegetativa por estaquia é um método simples porque o material apresenta facilidade na obtenção e transporte, o enraizamento inicia-se rápido, não há necessidade de utilização de tratamento físico ou hormonal e o florescimento ocorre seis meses após o plantio.

Para o êxito do plantio, segundo Arruda et al. (2004) as estacas de pinhão manso devem ser retiradas dos ramos mais próximos da base do caule, ladrões ou rebentões, sendo preferidos os ramos não muito grossos, retos, de entrenós curtos, casca lisa, acinzentadas e brilhantes com 40 a 50 cm de comprimento.

As pesquisas com pinhão manso ainda são incipientes e pouco se conhece, principalmente em relação à propagação vegetativa. Contudo, Smiderle e Kroetz (2009) constataram que a utilização de estacas lenhosas desenvolvem melhor o sistema radicular, sendo o mesmo verificado por Kockhar et al. (2008) e Noor Camellia et al. (2009), em comparação às estacas semilenhosas e herbáceas.

Segundo Bastos et al. (2004) a formação de raízes em estacas está relacionada tanto a fatores internos quanto externos. Entre os fatores externos, a coleta de material vegetativo nas diferentes estações do ano, por exemplo, influencia diretamente no processo, gerando diferentes percentuais de enraizamento, o que varia de espécie para espécie.

Essa influência se justifica, ao passo que a indução do sistema radicular se relaciona de maneira direta a alguns fatores ambientais, tais como temperatura, luz e umidade, fatores esses que variam conforme as diversas épocas do ano (HARTMANN et al., 2002; ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001).

Para Hartmann et al. (2004) o potencial de enraizamento de estacas caulinares pode ser influenciado pela idade da planta matriz e pela posição da estaca no ramo.

De acordo com Peixoto (1973) estacas de plantas oleaginosas colhidas de ramos lenhosos com até 2 anos de idade e localizadas na base dos ramos, são as mais indicadas para o enraizamento. Por outro lado, Hartmann et al. (2004) relatam que as estacas caulinares colhidas da posição apical do ramo têm menor grau de lignificação, células meristemáticas com metabolismo mais ativo e ausência ou menor quantidade de compostos fenólicos, o que facilita o enraizamento e o brotamento.

De acordo com Gondim et al. (2001) a posição da estaca no ramo e o tamanho a ser usado precisam ser bem definidos quando se deseja propagar uma espécie por estaquia, pois a escolha inadequada das estacas pode resultar em elevadas taxas de mortalidade e inviabilizar o processo de propagação.

Estudos realizados por Noor Camellia et al. (2009), constataram um incremento no enraizamento de estacas lenhosas de pinhão manso com a aplicação de 10.000 mg L^{-1} , 60 dias após o plantio, sendo a iniciação radicial observada a partir do oitavo dia.

Segundo Cortesão (1956), plantas provenientes de estacas são de vida mais curta e sistema radicular mais fraco, porém começam a produzir já no segundo ano. Em geral, estacas caulinares colhidas da posição apical do ramo têm menor grau de lignificação, células meristemáticas com metabolismo mais ativo e ausência ou menor quantidade de compostos fenólicos, o que facilita o enraizamento e o brotamento (HARTMANN et al., 2004). Porém, baixos índices de pegamento podem ocorrer devido à maior predisposição dessas estacas tenras em perderem umidade (LIMA et al., 2006).

De acordo com Gondim et al. (2001), a posição da estaca no ramo e o tamanho a ser usado precisam ser bem definidos quando se deseja propagar uma espécie por estaquia, pois a escolha inadequada das estacas pode resultar em elevadas taxas de mortalidade e inviabilizar o processo de propagação. Outro fator que influencia a capacidade de enraizamento das estacas é o teor de carboidratos visto que, ao longo do ramo, seu teor, tal como a quantidade de substâncias inibidoras ou promotoras do enraizamento, apresenta variações, constituindo, assim, um dos motivos pelos quais as estacas colhidas de diferentes porções do ramo tendem a diferir quanto ao potencial de enraizamento (HARTMANN et al., 2004).

No estágio de crescimento, as estacas podem ser classificadas como, herbáceas, semilenhosas e lenhosas. As herbáceas apresentam alta atividade meristemática e baixo grau de lignificação, as semilenhosas provêm de ramos não-lignificados oriundos de plantas lenhosas e as lenhosas apresentam alto grau de regeneração potencial e são altamente lignificadas (FACHINELLO et al., 2005).

Estudos realizados por Severino et al. (2011), obtiveram maiores números médios de brotos (5,7) com uso de estaca da base do ramo de pinhão manso, diferenciando estatisticamente da estaca apical (2,3). Assim como, Gosh e Singh (2010) também observaram que as estacas da base do ramo originaram plantas de pinhão manso com maiores números de brotos e raízes.

De acordo com Lima et al. (2010), o número de brotações em estacas de pinhão manso aumentou linearmente de acordo com o incremento no comprimento das estacas, notando-se 3 brotos nas estacas com 10 cm, e 5 brotos nas de 25 cm de comprimento.

Segundo Arruda et al. (2004) maiores valores de enraizamento de estacas de pinhão manso, foram obtidos quando utilizou estacas colhidas de ramos lenhosos, localizados na base dos ramos.

Estudos realizados por Vazquez et al. (2010) mostraram que estacas basais com 90cm de comprimento proporcionaram maiores massa seca da parte aérea (17,68g) diferindo estatisticamente das estacas apicais com 90cm (7,46g). O mesmo ocorreu quando utilizaram estacas basais com 30 cm de comprimento (6,92g), onde diferiu estatisticamente da estaca apical com 30 cm de comprimento (1,89g).

2.3.3 Micropropagação

A utilização de técnicas modernas de biotecnologia como a micropropagação, a manipulação genética e a biologia molecular estão sendo utilizadas para o melhoramento genético de plantas permitindo assim o desenvolvimento de novas variedades (PEREIRA, 2004).

A micropropagação utiliza pequenos fragmentos de tecido *in vivo* (explante) que são utilizados asépticamente em meio nutritivo, onde em cada fragmento de planta ainda que pequeno (inclusive células individuais), permanecem todos os elementos que em condições apropriadas podem reconstruir todo o organismo (TORRES et al., 1998).

A primeira aplicação comercial da micropropagação foi feita por Morel, no ano de 1960, ao multiplicar orquídeas, mediante cultura de ápices caulinares e regeneração de protocormos, diminutas estruturas se diferenciavam e davam origem a embriões (CARVALHO et al., 2006).

No Brasil, a micropropagação vem sendo muito utilizada, permitindo um acesso mais rápido dos agricultores à mudas de melhor qualidade, especialmente das variedades tradicionais e as desenvolvidas pelos programas de melhoramento genético. A técnica envolve o crescimento *in vitro* a partir de gemas (ápices caulinares ou florais), nos quais é induzida a formação de novas gemas, em condições controladas de cultivo (ALVES et al., 2005).

Além da produção de mudas em qualquer época do ano e com economia de tempo e espaço, as principais vantagens da micropropagação incluem a uniformidade no crescimento das mudas, o que permite a uniformização do plantio e sincronização da colheita, e ainda a

obtenção de plantas com características genéticas idênticas à matriz, evitando a disseminação de pragas e doenças (ALVES et al., 2005).

Um dos princípios básicos para o sucesso da micropropagação depende, em parte, de medidas de controle e prevenção da contaminação microbiana (LEIFERT et al., 1994; SILVA et al., 2003) devido a esta técnica proporcionar um ambiente favorável para o crescimento de microrganismos como bactérias, leveduras e fungos (DANTAS et al., 2002).

Os microrganismos contaminantes competem com os explantes pelos nutrientes do meio de cultivo, eliminando no meio metabólitos tóxicos, podendo ocasionar a morte da plântula (PEREIRA et al., 2003).

Na desinfestação do explante, a maior dificuldade é obter a descontaminação sem conduzi-los à morte quando isolados. Para isso, várias substâncias com ação germicida são utilizadas na desinfestação dos explantes. Os mais comuns são o etanol e os compostos a base de cloro, tais como o hipoclorito de sódio e de cálcio (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Diversos fatores são determinantes, entre eles a concentração dos agentes desinfetantes, o tempo de exposição dos explantes que podem variar muito os índices de contaminação de acordo com a espécie e a sensibilidade do tecido a ser desinfetado (CHAVES et al., 2005; FERREIRA et al., 2009).

Em laboratórios comerciais de micropropagação de plantas, Leifert et al. (1991) identificaram 293 espécies de bactérias, das quais 13% pertenciam ao gênero *Bacillus*. As espécies deste gênero formam endósporos resistentes ao álcool e ao calor, podendo, inclusive, ser disseminadas pelo álcool utilizado na esterilização dos instrumentos e resistir à flambagem e à autoclavagem do meio de cultura, por 20 minutos a 110°C (BOXUS; TERZI, 1987; NANNETTI, 1994).

De acordo com Oliveira et al. (2000) mesmo com todos os cuidados com assepsia em biofábricas brasileiras, já foram registradas porcentagens de contaminação superiores a 30% causadas tanto por fungos como por bactérias.

Segundo Fermino Júnior et al. (2009) o sucesso da micropropagação tem como seu ponto de partida a recomendação de um protocolo de assepsia e estabelecimento *in vitro* com o maior número de explantes assépticos, menor produção de compostos fenólicos (oxidação) e com maior sobrevivência dos explantes para as etapas seguintes.

Em estudos realizados por Morais et al. (2010), com plantas de pinhão manso utilizando como explantes segmentos nodais, observaram que a imersão dos explantes em hipoclorito de sódio a 1,5% de cloro ativo durante 8 minutos foi eficiente no controle da contaminação bacteriana.

Para a desinfestação de sementes de pinhão manso, Neves et al. (2009), obtiveram com a combinação de álcool 70% por 30 segundos, hipoclorito de sódio 0,5% durante dois minutos, 28% de contaminação de fungos, como *Aspergillus* spp., porcentagem menor em comparação com o tratamento consistindo apenas de lavagem com água destilada e esterilizada no qual a porcentagem de contaminação foi de 80%.

Trabalhos realizados por Barboza et al. (2007) com assepsia em pinhão manso constataram que aos 15 e 45 dias após inoculação em meio MS, as concentrações de hipoclorito de sódio utilizadas para limpeza dos explantes, não foram eficientes para eliminar os contaminantes externos, dos segmentos da base foliar e segmentos internodais que apresentaram 80 e 100% de contaminação. Já Campos et al. (2007), inocularam *in vitro* segmentos nodais de *Jatropha elliptica* desinfestados com lavagem em solução de 1% de hipoclorito de sódio e inoculação em meio de cultura MS. A taxa de contaminação dos explantes foi de 19,3%, a maioria deles contaminado por fungos do gênero *Fusarium*.

Em explantes foliares de pinhão manso, Suzuki (2012) observou que os tempos de imersão em hipoclorito de sódio que proporcionou maior sobrevivência foi de 5 e 10 minutos, sendo que para o tempo de 5 minutos a porcentagem de sobrevivência foi acima de 90,0%.

Segundo Niedz e Bausher (2002) embora o hipoclorito de sódio seja um dos agentes esterilizantes mais utilizados na cultura de tecidos, sua ação germicida se dá de forma mais efetiva no controle de microrganismos contaminantes que se encontram na superfície dos tecidos. O desenvolvimento de bactérias, geralmente de natureza endofítica, é de controle mais difícil e, nesse caso, o hipoclorito em solução, mesmo em altas concentrações, não se torna eficiente.

A micropropagação depende da sequência de fases ou etapas, onde o êxito de cada uma é necessário para o êxito da próxima etapa e a introdução do explante no meio de cultivo (estabelecimento), cujo sucesso depende de uma eficiente assepsia dos explantes a serem estabelecidos (GEORGE, 1993).

De acordo com Alves et al. (2005), mudas micropropagadas sobrevivem mais no campo e crescem mais rapidamente nos primeiros estádios de desenvolvimento, do que as mudas convencionais.

As células das plantas possuem capacidade de realizar a fotossíntese *in vitro*, porém o crescimento das culturas é sustentado pela fonte de carboidrato adicionado ao meio (TORRES et al., 1998).

Segundo Andrade (2002), o meio de cultura é o principal fator para uma regeneração *in vitro* com sucesso. O meio de cultura utilizado para a regeneração deve possuir todos os

nutrientes necessários para o desenvolvimento sadio da planta, assim como uma fonte de carbono, vitaminas e reguladores de crescimento. A combinação adequada desses componentes, associada a fatores como luz e temperatura, bem como o recipiente utilizado para o cultivo, são à base da tecnologia de tecidos vegetais (KERBAUY, 1997).

Substâncias podem ser usadas para regular o processo morfogênético da planta, essas substâncias podem ser hormônios ou reguladores vegetais (CID, 2000). As citocininas são utilizadas para quebra da dominância apical dos brotos e aumento da taxa de multiplicação. Desse modo, ocorre um grande número de brotações por meio do crescimento de meristemas laterais (SRISKANDARAJAH et al., 1982). Entre as citocininas o 6-benzilaminopurina (BAP) tem sido muito eficiente na multiplicação de partes aéreas e indução de gemas adventícias em diversas espécies (HU; WANG, 1983).

Segundo Vianna et al. (2010) o índice de sobrevivência das gemas apicais de pinhão manso foi de 100% no meio contendo 0,1; 0,2; 0,4 mg L⁻¹ de BAP, e de 90% nos demais. Para multiplicação em meio de cultura, em geral, as concentrações da citocinina BAP variam de 0,1 a 5 mg L⁻¹ (TOMBOLATO; COSTA, 1998).

Estudos realizados por Datta et al. (2007) onde trabalharam com meio de cultivo MS com 100% dos sais, verificaram que a maior proliferação de brotos de pinhão manso ocorreu com 22,2 µM N⁶-benzyladenine (BAP) e 55,6 µM sulfato de adenine, depois de 4 a 6 semanas.

Pesquisas realizadas por Rajore e Batra (2005) com gemas apicais de *J. curcas* L. em meio MS + 8,87µM de BAP e 2,85µM de AIA, juntamente com sulfato de adenina, glutamina e carvão ativado, obtiveram número médio de brotos de 3,4.

Outro grupo importante é o das auxinas, devido a sua capacidade de atuar na divisão celular e expansão, é essencial para o desenvolvimento de tecidos vasculares e de raízes, induz embriões somáticos e promove o crescimento de calos, bem como de meristemas e brotos (KUHLEMEIER; REINHARDT, 2001; LEYSER, 2003).

De acordo com Fachinello et al. (2005) o papel das auxinas na indução e no desenvolvimento de raízes tem sido bastante pesquisado, sendo que o ácido indolbutírico (AIB) é o mais utilizado, por possibilitar boa capacidade de enraizamento e ser menos sensível à degradação biológica, em comparação às demais auxinas sintéticas. No entanto, níveis elevados de auxinas podem ter efeito inibitório sobre o processo de enraizamento (NOGUEIRA et al., 2011).

Em pinhão manso, Deore et al. (2008) observaram que a adição de 0,5µM de AIB ao meio de cultivo, proporcionou após 30 dias, 80% de plantas enraizadas.

Plantas de *J. curcas* submetidas ao enraizamento em concentrações de AIB entre 2,5 e 10 μM não formaram raízes. Contudo, quando usou as concentrações de 0,5 e 1,0 μM a porcentagem de enraizamento foi de 15 e 52% respectivamente (DATTA et al., 2007)

De acordo com Grattapaglia e Machado (1990) o uso de altas concentrações de sais inibem as fases de enraizamento, sendo, recomendado meio de cultura 100% concentrado para a indução de enraizamento e para o alongamento das raízes o meio de cultura diluído.

2.4 USO DE SUBSTRATOS NA PROPAGAÇÃO DE PLANTAS

Os substratos têm sua utilização mundial por proporcionarem melhores condições físicas, químicas e biológicas ao desenvolvimento das plantas (KÄMPF, 2001). Esses materiais são formados por diferentes matérias-primas e classificados de acordo com o material de origem (ABREU, 2002), podendo ter origem vegetal (xaxim esfagno, turfa, carvão, fibra de coco e resíduos de beneficiamento como tortas, bagaços e cascas); origem mineral (vermiculita, perlita, granito, calcário, areia, cinasita) e origem sintética (lã de rocha, espuma fenólica e isopor) (FERRAZ et al., 2005).

Entretanto, de acordo com Nogueira et al. (2003), o substrato influencia diretamente a germinação, em função de sua estrutura, aeração, capacidade de retenção de água, grau de infestação de patógenos, entre outros, podendo favorecer ou prejudicar a germinação das sementes. Constitui o suporte físico no qual a semente é colocada e tem a função de manter as condições adequadas para a germinação e o desenvolvimento das plântulas.

O substrato deve fornecer as sementes condições ideais de aeração, estrutura, capacidade de retenção de água, sanidade e outros. Deve manter proporção adequada entre a disponibilidade de água e aeração e não deve ser umedecido em excesso, para evitar que a película de água envolva completamente a semente e diminua a entrada e absorção de oxigênio (ALVES et al., 2002; ANDRADE et al., 2006).

Segundo Heller (1996), fatores como composição do substrato, aeração e drenagem influenciam significativamente o índice de sobrevivência e desenvolvimento de mudas propagadas por estaquia.

De acordo com Brasil (1985) devem se evitar o cultivo do pinhão manso em solos muito argilosos, rasos, com umidade constante, pouco arejado e de difícil drenagem.

Segundo MELO et al. (2005) o excesso de umidade provoca decréscimo na germinação, pois impede a penetração de oxigênio e reduz todo o processo metabólico resultante, além de aumentar a incidência de fungos, levando à redução no vigor.

Para que o processo de enraizamento tenha sucesso, necessita-se da escolha de um substrato apropriado, o qual deve possuir qualidades que auxiliem a iniciação radicial nas estacas, proporcionando suporte da estaca durante o enraizamento (PAIVA; GOMES, 1993). Essa escolha depende da espécie, tipo da estaca e estação do ano, porém em todos os casos o substrato deve proporcionar umidade, facilidade de trocas gasosas e penetração das raízes, sendo relativamente livre de contaminações (JANICK, 1966).

Os substratos mais utilizados na propagação de plantas são a vermiculita, turfa, serragem, casca de arroz carbonizada, moinha de carvão, terriço, espuma de poliuretano e diversas misturas destes. O melhor substrato depende da espécie propagada e das condições do trabalho (PAIVA; GOMES, 1993).

A vermiculita é um substrato de origem mineral, e é constituída por lâminas justapostas, que se expandem, quando submetidas a determinadas temperaturas, ocorrendo aumento considerável entre suas camadas. Quando a vermiculita é expandida, apresenta grande aumento na sua capacidade de retenção de água, de ar e nutrientes transferíveis para as plantas. Depois do processo de industrialização se torna um material leve, puro, esterilizado, não combustível, insolúvel em água e solventes orgânicos, não sendo tóxica, abrasiva, nem deteriorável; apresenta ainda, alta capacidade de troca catiônica e de absorção de um grande volume de água e outros líquidos (MONIS, 1975). Apresenta grande espaço de aeração, alta CTC e retenção de água, deixando disponível para a planta, em caso de uma breve estiagem.

A vermiculita é normalmente um bom agente na melhoria das condições físicas do solo e, ainda apresenta-se quimicamente ativa, liberando íons magnésio para a solução do solo e absorvendo fósforo e nitrogênio na forma amoniacal (DINIZ et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2008).

Segundo Hoppe et al. (2004), a vermiculita pode reter 350 litros de água por metro cúbico, e pode conter 8% de K assimilável e 12% de Mg assimilável, sendo o seu pH próximo de neutro de 7 a 7,2.

O substrato comercial Bioplant[®] apresenta em sua composição elementos que proporcionam o desenvolvimento das plantas como: casca de pinus e eucalipto, fibra e pó de coco, serragem de madeira, esterco, vermiculita, e adubos como superfosfato simples, carbonato de cálcio e magnésio, superfosfato de cálcio, entre outros.

Para mudas de pinhão-manso, Paulino et al. (2011) constataram que as propriedades físicas do substrato são essenciais para o pleno desenvolvimento das mudas, pois o cultivo de plantas em recipientes limita o desenvolvimento do sistema radicular, influenciando diretamente na absorção de água e nutrientes.

Em estudos realizados por Silva et al. (2009), a emergência de plântulas de pinhão manso utilizando como substrato a areia, não teve diferença significativa para os tratamentos estudados com relação ao tempo médio de germinação (TMG), sendo que o tratamento: rafe para baixo, a germinação ocorreu com 16,96 dias, enquanto o tratamento carúncula para baixo o TMG foi de 16,24 dias. Os mesmos autores também não observaram diferença estatística para massa seca da parte aérea e das raízes de pinhão manso em função da posição da semente utilizando como substrato a areia.

Segundo Medeiros et al. (2010) e Camargo et al. (2011) as maiores alturas de plântulas de pinhão manso, 23,17cm, aos 90 dias foram obtidas quando utilizaram como substrato solo com diferentes porcentagens de esterco bovino (até 60%).

Pesquisas realizadas por Silva et al. (2008) com sementes de pinhão manso, foram encontrados valores de IVG de 1,86 para sementes com tegumento, semeadas em areia, e para sementes sem tegumento o IVG foi de 1,06.

Estudos realizados por Lima et al. (2011) estudaram diferentes substratos para formação de mudas de pinhão manso em condições de casa de vegetação, concluíram que a mistura de composto de lixo + lodo de esgoto + terra, na proporção de 1:1:1, proporciona maior diâmetro (11,47cm).

Segundo Lima et al. (2011) a massa seca de mudas de pinhão manso cultivadas em substratos compostos por misturas de casca de mamona não teve resultados significativos.

De acordo com Lima et al. (2006) e Lima et al. (2009) as características ideais de um substrato dependem das exigências da espécie cultivada, por isso dificilmente se encontra um material que reúna sozinho todas as condições nutricionais e físicas para o adequado crescimento das plantas.

REFERÊNCIAS

- ABREU, M. F. Uso da análise química na avaliação da qualidade de substratos e componentes. In: ENCONTRO NACIONAL DE SUBSTRATOS PARA PLANTAS 3., 2002, Campinas. **Anais...** Campinas: IAC, 2002. p. 17-28.
- ACHTEN, W. M. J.; VERCHOTB, L.; FRANKENC, Y. J.; MATHIJSD, E.; SINGHE, V. P.; AERTSA, R.; MUYYA, B. *Jatropha* bio-diesel production and use. **Biomass and Bionenergy**, Oxford, v. 32, n. 12, p. 1063-1084, 2008.

ALVES, J. M. A.; SOUZA, A. de A.; SILVA, S. R. G. da; LOPES, G. N.; SMIDERLEO, J.; UCHOA, S. C. P. Pinhão-manso: uma alternativa para produção de biodiesel na agricultura familiar da Amazônia brasileira. **Agro@ambiente**, Boa Vista, v. 2, n. 1, p. 57-68, 2008. Disponível em: <<http://revista.ufr.br/index.php/agroambiente/article/view/160/92>>. Acesso em: 12 jan. 2013.

ALVES, H. J.; LIMA, M. B.; TRINDADE, A. V. **Mudas micropropagadas**. Brasília: Agência de informação Embrapa, 2005. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia40/AG01/arvore/AG01_8_41020068054.html>. Acesso em: 23 ago. 2012.

ALVES, E. U.; PAULA, R. C.; OLIVEIRA, A. P.; BRUNO, R. L. A.; DINIZ, A. A. Germinação de sementes de *Mimosa caesalpiniae folia* Benth. em diferentes substratos e temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 169-178, 2002.

ANDRADE, A. C. S.; PEREIRA, T. S.; FERNANDES, M. J.; CRUZ, A. P. M.; CARVALHO, A. S. R. Substrato, temperatura de germinação e desenvolvimento pós-seminal de sementes de *Dalbergia nigra*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 3, p. 517-523, 2006.

ANDRADE, S. R. M. de. **Princípios da cultura de tecidos vegetais**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2002. 16 p. (Documentos, 58).

ANDRÉO-SOUZA, Y.; PEREIRA, A. L.; SILVA, F. F. S.; RIEBEIRO-REIS, R. C.; EVANGELISTA, M. R. V.; CASTRO, R. D.; DANTAS, B. F. Efeito da salinidade na germinação de sementes e no crescimento inicial de mudas de pinhão-manso. **Revista Brasileira Sementes**, Londrina v. 32, n. 2, p. 83-92, 2010.

ARRUDA, M. P.; KULKARNI, M.; STADEN, J. V.; PINHEIRO, J. B. **Efeito da embebição e escarificação de sementes na germinação e desenvolvimento inicial de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.)**. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 2007. Disponível em: <<http://www.usp.br/siicusp/15Siicusp/1832.pdf>>. Acesso em: 4 jun. 2013.

ARRUDA, F. P.; BELTRÃO, N. E. M.; ANDRADE, A. P.; PEREIRA, W. E.; SEVERINO, L. S. 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.

AUGUSTUS, G. D. P. S.; JAYABALA, N. M.; SEILERB, G. J. Evaluation and bioinduction of energy components of *Jatropha curcas*. **Biomass and Bioenergy**, Amsterdam, v. 23, n. 3, p. 161-164, 2002.

AVELAR, R. C.; DEPERON JUNIOR, M. A.; CARVALHO, J. P. F. Produção de mudas de pinhão manso (*Jatropha curcas*) em tubetes. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 1., 2006, Brasília. **Anais...** Brasília: ABIPTI, 2006. p. 137-139.

BARBOZA, S. B. S. C.; SOUSA, J. A.; SANTANA, M. C. S.; LÉDO, A. S.; OLIVEIRA, I. R. Avaliação de métodos de assepsia e tipos de explantes para estabelecimento *in vitro* de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS 16.; SIMPÓSIO DE PLANTAS ORNAMENTAIS NATIVAS 1.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS 3., 2007, Goiânia. **Anais...** Goiânia: [s.n.], 2007. 1CD-ROM.

BARROS, A. P. B.; BRASIL, A. N.; QUINTÃO, C. M. F. Avaliação de tratamentos para superação de dormência em sementes e pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL 4., 2007, Varginha. **Anais...** Varginha: UFLA, 2007. p. 1-6.

BASTOS, D. C.; MARTINS, A. B. G.; SCALOPPI JÚNIOR, J.; SARZI, I; FATINANSI, J. C. Influencia do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas apicais e basais de caramboleira (*Averrhoa carambola* L.) sob condições de nebulização intermitente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 284-286, 2004.

BILICH, F.; SILVA, R. **Análise do potencial brasileiro na produção de biodiesel**. Brasília: Brasília, 2006. Disponível em <<http://www.biodiesel.gov.br/docs/congresso2006/agricultura.pdf>> Acesso em: 20 abr. 2012.

BORÉM, A. **Melhoramento de plantas: sistemas reprodutivos das espécies cultivadas (reprodução assexuada)**. Viçosa: UFV, 1997. p. 36-37.

BOXUS, P. H.; TERZI, J. M. Big losses due to bacterial contamination can be avoided in mass propagation scheme. **Acta Horticulturae**, Gembloux, v. 2, n. 130, p. 91-93, 1987.

BRASIL. Ministério da Indústria e do Comércio. Secretária de Tecnologia Industrial. **Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais**. Brasília: STI/CIT, 1985. , 364 p. (Documentos, 16).

CÂMARA, G. M. S.; HEIFFIG, L. S. **Agronegócio de plantas oleaginosas: matérias-primas para biodiesel**. Piracicaba: EALQ/USP, 2006. 256 p.

CAMARGO, R.; PIRES, S. C.; MALDONADO, A. C. D.; CARVALHO, H. P; COSTA, T. R. Avaliação de substratos para a produção de mudas de pinhão-manso em sacolas plásticas. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Uberlândia, v. 5, n.1, p. 31-38, 2011.

CAMARGO, R.; MALDONADO, A. C. D.; SILVA, P. A.; COSTA, T. R. Biossólido como substrato na produção de mudas de pinhão-manso. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 12, p. 1304-1310, 2010.

CAMPOS, R. A. S.; AÑEZ, L. M. M.; DOMBROSKI, J. L. D.; DIGNART, S. L. Micropropagação de *Jatropha elliptica* (Pohl) Müll. Arg. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 3, p.30-36, 2007.

CARDOSO, V. J. M. Dormência: estabelecimento do processo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 95-108.

CARNIELLI, F. **O combustível do futuro**. Boletim técnico: Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, 2003. Disponível em: <www.ufmg.br/boletim/bul1413> Acesso em: 1 abr. 2012.

CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M. A.; MEDEIROS, M. J. L. **Fatores inerentes à micropropagação**. Campina Grande: Embrapa, 2006. p. 11-25. (Documentos, 148).

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes, ciências, tecnologia e produção**. Campinas: Fundação Cargil, 2000. 429 p.

CID, L. P. B. A propagação *in vitro* de plantas. O que é isso? **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 2, n. 25, p. 16-21, 2000.

CHAVES, A. da C.; SCHUCH, M. W. ; ERIG, A. C. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* L. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 6, p. 1281-1287, 2005.

CORTESÃO, M. **Culturas tropicais: plantas oleaginosas**. Lisboa: Clássica, 1956. 231 p.

CREPALDI, I. C.; SANTANA, J. R. F. de; LIMA, P. B. Quebra de dormência de pau-ferro (*Caesalpinia férrea* Mart. ex Tul. – Leguminosae, Caesalpinioideae). **Sitientibus**, Feira de Santana, v. 5, n. 18, p. 19-29, 1998.

DANTAS, S.; OLIVEIRA, S.; CÂMARA, T. Contaminação microbiana no cultivo *in vitro* de plantas. In: LUZ, W. C. (org.) **Revisão anual de patologia de plantas**. 10. ed. Passo Fundo: RAPP, 2002. v. 10, p. 391-407.

DATTA, M. M.; MUKHERJEE, P.; GHOSH, B.; JHA, T. B. *In vitro* clonal propagation of biodiesel planta (*Jatropha curcas* L.). **Current Science**, Bangalore, v. 93, n. 10, p. 1438-1442, 2007.

DEORE, A. C.; SUDHAKAR JOHNSON, T. High frequency plant regeneration from leaf-disc cultures of *Jatropha curcas* L.: an important biodiesel. **Plant Biotechnology Report**, Tóquio, v. 2, n. 1, p. 7-11, 2008.

DINIZ, K. A.; GUIMARÃES, S. T. M. R.; LUZ, J. M. Q. Húmus como substrato para a produção de mudas de tomate, pimentão e alface. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 22, n. 3, p. 63-70, 2006.

DRUMMOND, O. A.; PURCINO, A. A. C.; CUNHA, L. H. S.; VELOSO, J. M. **Cultura do pinhão manso**. Belo Horizonte: EPAMIG, 1984. 6 p. (Documentos, 131).

DURÃES, F. O. M.; LAVIOLA, B. G.; SUNDFELD, E.; MENDONÇA, S.; BHERING, L. L. **Pesquisa, desenvolvimento e inovação: focando pinhão-manso para como matéria prima para produção de biodiesel**. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2009. 17 p. (Série Documentos, 1).

ECHEVERRIGARAY, S.; ANDRADE, L. B.; DELAMARE, A. P. L.; ZENI, A. L. B.; CARRER, R. Cultura de tecidos e micropropagação de plantas aromáticas e medicinais. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, p. 257-276, 2001.

ELIAS, M. E.; FERREIRA, S. A. N.; GENTIL, D. F. O. Emergência de plântulas de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) em função da posição de semeadura. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 36, n. 3, p. 385-388, 2006.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS- EPAMIG. **Coletânea sobre pinhão manso**. Belo Horizonte: EPAMIG/FINEP, 2003. Disponível em: <<http://www.epamig.br>> Acesso em: 12 jan. 2013.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. (Ed.). **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221 p.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2. ed. Pelotas: UFPel, 1995. 178 p.

FERMINO JUNIOR, P. C.; NAGAO, E. O.; PEREIRA, J. E. S. Estabelecimento, germinação e multiplicação *in vitro* de teca (*Tectona grandis* L. f.) a partir de genótipos da Amazônia Sul-Occidental. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 37, n. 84, p. 427-435, 2009.

FERRAZ, M. V.; CENTURION, J. F.; BEUTLER, A. N. Caracterização física e química de alguns substratos comerciais. **Acta Scientia Agronômica**, Maringá, v. 27, n. 2, p. 209-214, 2005.

FERREIRA, M. G. R.; SANTOS, M. R. A.; BRAGADO, A. C. R. Propagação *in vitro* de cupuaçuzeiro: desinfestação de explantes florais. **Saber Científico**, Porto Velho, v. 2, n. 2, p. 37- 44, 2009.

FOIDL, N.; FOIDL, G.; SANCHES, M.; MITTELBAACH, M.; HACKEL, S. *Jatropha curcas* L. as a source for the productions of biofuel in Nicarágua. **Bioresource Technology**, Skipton, v. 58, n. 1, p. 77-82, 1996.

GAIN REPORT. **India**: biofuels annual. India: USDA, 2010. 11 p.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: the technology**. 2. ed. London: Exegetics, 1993. p. 98-165.

GERALD, L. T. S.; BRESSAN, E. de A.; PRADO JÚNIOR, J. P. Q.; ARAÚJO, D. R. F. de.; MIRANDA, D.; FIOR, R. C.; SCHMIDT, V. A. Efeito da auxina na brotação e enraizamento de estacas de pinhão-manso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL 3., 2006, Varginha. **Anais...** Varginha: UFLA, 2006. p. 1-4.

GOVERNMENT OF INDIA- GOI. **Energy statistics**. New Delhi: Central Statistical Organization, Ministry of Statistics and Programme Implementation. 2004. 57 p.

GONDIM, T. M. de S.; LEDO, F. J. da S.; CAVALCANTE, M. de J. B.; SOUZA, A. das G. C. Efeito da porção do ramo e comprimento de estacas na propagação vegetativa de plantas de cupuaçu. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 1, p. 203-205, 2001.

GOSH, L.; SINGH, L. Study of factors influencing vegetative propagation of *Jatropha curcas*. **Indian Forester**, Uttarakhand, v. 136, n. 1, p. 1637-1648, 2010.

GRAÇA, M. E. C. COOPER, M. A.; TAVARES, F. R. CARPANEZZI, A. A. **Estaquia de erva-mate**. Curitiba: Embrapa Florestais, 2000, 6 p. (Circular Técnica, 18).

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: SPI/Embrapa- CNPH, 1998. v. 1, p. 183-260.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2004. 880 p.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIS JÚNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New York: Englewood Clippis, 2002. 880 p.

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. (Coord.) **Agronegócio de plantas oleaginosas: matérias-primas para biodiesel**. Piracicaba: ESALQ/USP/LPV, 2006. p. 105-121.

HELLER, J. **Physic nut. *Jatropha curcas* L.:** promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Rome: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research./ International Plant Genetic Resources Institute, 1996. 66 p.

HOPPE, J. M.; GENRO, C. J. M.; VARGAS, C. O.; FLORIANO, E. P.; REIS, E. R.; FORTES, F. O.; MÜLLER, I.; FARIAS, J. A.; CALEGARI, L.; COSTA, L. P. E. **Produção de sementes e mudas florestais**. 2. ed. , Santa Maria: PPGEF/ UFSM, 2004. 388 p. (Caderno Didático, 1).

HU, C. Y.; WANG, P. J. Meristem, shoot tip and bud culture. In: EVANS, D. A.; SHARP, W. R.; AMMIRATO, P. V.; YAMADA, Y. (Ed.). **Handbook of plant cell culture**. New York: MacMillan, p. 117-227, 1983.

JAIN, S.; SHARMA, M. P. Prospects of biodiesel from *Jatropha* in India: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Oxford, v. 14, n. 2, p. 763-771, 2010.

JANICK, J. **A ciência da horticultura**. Rio de Janeiro: USAID, 1966. 485 p.

JCL. **Produtores abandonam lavouras de pinhão manso em Minas Gerais**. [S.l.]: Globo Rural. 2011. Programa de TV. Disponível em:

<<http://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2011/03/produtores-abandonam-lavouras-de-pinhao-manso-em-minas-gerais.html>> Acesso em: 20 fev. 2013.

JOKER, D.; JEPSEN, J. *Jatropha curcas* L. **Seed Leaflet**, Denmark, v. 2, n. 83, p. 1-2, 2003.

KÄMPF, A. N. **Análise física de substratos para plantas**. Viçosa: SBCS, 2001. v. 26, p. 5-7.

KERBAUY, G. B. Clonagem de plantas *in vitro*. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 1, n. 1, p. 30-33, 1997.

KOCHHAR, S.; SINGH, S.P.; KOCHHAR, V.K. Effect of auxins and associated biochemical changes during clonal propagation of the biofuel plant: *Jatropha curcas* L. **Biomass and Bioenergy**, Lucknow, v. 32, n. 12, p. 1136-1143, 2008.

KUHLEMEIER, C.; REINHARDT, D. Auxin and phyllotaxis, **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 6, n. 5, p. 187- 189, 2001.

KUMAR, A.; SHARMA, S. An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropha curcas* L.): a review. **Industrial crops and products**, Netherlands, v. 28, n. 1, p. 1–10, 2008.

LEYSER, O. Regulation of shoot branching by auxin. **Trends in Plant Science**, London, v. 8, n. 1, p. 541-545, 2003.

LEIFERT, C.; MORRIS, C. E.; WAITES, W. M. Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue culture and field grown plants: reason for contamination problems *in vitro*. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Netherlands, v. 13, n. 2, p. 139-183, 1994.

LEIFERT, C.; RITCHIE, J. Y.; WAITS, W. M. Contaminants of plant-tissue and cell cultures. **World of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 7, n. 7, p. 452- 69. 1991.

LIAQUAT, A. M.; KALAM, M. A.; MASJUKI, H. H.; JAYED, M. H. Potential emissions reduction in road transport sector using biofuel in developing countries. **Atmospheric Environment**, Oxford, v. 44, n. 32, p. 3869-3877, 2010.

LIMA, R. L. S.; SEVERINO, L. S.; FERREIRA, G. B.; SOFIATTIS, V.; SAMPAIO, L. R.; BELTRÃO, N. E. M. Casca de mamona associada a quatro fontes de matéria orgânica para a produção de mudas de pinhão-manso. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n. 2, p. 232-237, 2011.

LIMA, R. L. S.; SEVERINO, L. S.; PEREIRA, W. E.; LUCENA, A. M. A.; GHREYI, H. R.; ARRIEL, N. H. C. Comprimento das estacas e parte do ramo para formação de mudas de pinhão-manso. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 11, p. 1234-1239, 2010.

LIMA, R. L. S.; SEVERINO, L. S.; SAMPAIO, L. R.; FREIRE, M. A. O.; BELTRÃO, N. E. M.; ARRIEL, N. H. C. Crescimento e teor foliar de nutrientes em mudas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) em substratos contendo cinco materiais orgânicos e fertilizante mineral. **Revista Brasileira Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 13, n. 1, p. 29-36, 2009.

LIMA, R. L. S.; SEVERINO, L. S.; SILVA, M. I. L.; JERÔNIMO, J. F.; VALE, L. S.; BELTRÃO, N. E. M. Substratos para produção de mudas de mamoneira compostos por misturas de cinco fontes de matéria orgânica, **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 3, p. 474-479, 2006.

MARCOS FILHO, J.; KOMATSU, V. H.; BARZAGHI, L. Métodos para superar a dormência de sementes de girassol. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 9, n. 2, p. 65-74, 1987.

- MEDEIROS, K. A. A. L.; SOFIATTI, V.; SILVA, H.; LIMA, R.; LUCENA, A. M. A.; VASCONCELOS, G. C.; ARRIEL, N. H. C. Mudanças de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) produzidas em diferentes fontes e doses de matéria orgânica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA 4.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE OLEAGINOSAS ENERGÉTICAS, 1., 2010, João Pessoa. **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2010. p. 1413-1419.
- MELO, R. R.; FERREIRA, A. G.; JÚNIOR, F. R. Efeitos de diferentes substratos na germinação de sementes de angico (*Anadenanthera columbrina* (Vell) Brenan). **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, Garça, v. 5, n. 8, p. 1-8, 2005.
- MENDES, R. de C.; DIAS, D. C. F. S.; PEREIRA, M. C.; BERGER, P. G. Tratamentos pré-germinativos em sementes de mamona (*Ricinus communis* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 187-194, 2009.
- MONIS, A. C. **Composição química e estrutura dos minerais de argila**: elementos de pedologia. São Paulo: Polígono/EDUSP, 1975. 459 p.
- MORAIS, M. B.; ALMEIDA, S. C. P.; GURGEL, E. P.; MARINHO, M. J. M.; SILVA, K. M. B.; ALBUQUERQUE, C. C. Influência do Hipoclorito de Sódio no controle da contaminação bacteriana em explantes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 62., 2010, Natal. **Anais...** Natal: UFRN, 2010. p. 1-4.
- NANNETTI, D. C. **Utilização da cultura de tecidos vegetais na micropropagação e manutenção de *Heliconia* sp.** 1994. 106 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1994.
- NEVES, W. dos S.; PARREIRA, D. F.; FERREIRA, P. A.; LOPES, E. A. Avaliação fitossanitária de sementes de pinhão manso provenientes dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. **Revista Trópica**, Chapadinha, v. 3, n. 2, p. 17-23, 2009.
- NEVES, C. S. V. I.; MEDINA, C. de C.; AZEVEDO, M. C. B. de.; HIGA, A. R.; SIMON, A. Efeitos de substratos e recipientes utilizados na produção das mudas sobre a arquitetura do sistema radicular de árvores de cácia-negra. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 6, p. 897-905, 2005.
- NIEDEZ, R. P.; BAUSHER, M. G. Control of *in vitro* contamination of explants from greenhouse and field grown trees. **In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant**, New York, v. 38, n. 1, p. 468-471, 2002.
- NIRANJAN, H. G.; RAMESH BABU, H. N.; RAJESHWARI, N.; SUDEER, S. Effect of Presowing Treatments on the Germination and Vigour of Stored Accessions of *Jatropha curcas* L. Collected from Different Places of Karnataka. **Research and Reviews in Biomedicine and Biotechnology**, Karnataka, v. 1, n. 2, p. 94-100, 2010.
- NOGUEIRA, A. R. C.; SOARES, A. A.; IBRAHIM, A. B.; CAMPOS, F. A. P. Analysis of organogenic competence of Cotyledons of *Jatropha curcas* and their *in vitro* histological behavior. **African Journal of Biotechnology**, Nigéria, v. 10, n. 54, p. 11249-11258, 2011.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; ALBUQUERQUE, M. B.; SILVA JUNIOR, J. F. Efeito do substrato na emergência, crescimento e comportamento estomático em plântulas de mangabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 15-18, 2003.

NOOR CAMELLIA, N. A.; THOHIRAH, L. A.; ABDULLAH, N. A. P.; MOHD KHIDIR, O. Improvement on Rooting Quality of *Jatropha curcas* Using Indole Butyric Acid (IBA). **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, Putra Malasia, v. 5, n. 4, p. 338-343, 2009.

NOVEMBRE, A. D.; FARIA, T. C.; PINTO, D. H. V.; CHAMMA, H. M. C. P. Teste de germinação de sementes de sansão-do-campo (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. - Fabaceae-mimosoideae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 17- 21, 2007.

NUNES, C. F. **Caracterização de frutos, sementes e plântulas e cultivo de embriões de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)**. 2007. 78 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

OLIVEIRA, J. R.; PAULO, M. W. de; CORRÊA, R. M.; REIS, E. S.; CARVALHO, M. A.; RODRIGUES, L. E.; REIS, M. M. dos. Cultivos agrícolas utilizando telas coloridas e termorefletoras. In: JORNADA CIENTÍFICA 1., 2008, Bambuí. **Anais...** Bambuí: CEFET, 2008. p. 1-5.

OLIVEIRA, M. C.; RIBEIRO, J. F.; RIOS, M. N. S.; REZENDE, M. E. **Enraizamento de estacas para produção de mudas de espécies nativas de matas de galeria**. Brasília: Embrapa Cerrados, 2001. 4 p. (Recomendação Técnica, 41).

OLIVEIRA, R. P.; SILVEIRA, D. G.; SILVA, S. O. Efeito da desinfestação e do uso de meios indicadores de contaminação na micropropagação de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p.57-61, 2000.

OPENSHA, W. K. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 19, n. 1, p. 1-15, 2000.

PAGLIARINI, M. K. **Germinação de sementes, adubação e níveis de sombreamento no desenvolvimento de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L. var. *Stilbocarpa*)**. 2011. 97 f. Dissertação (Mestrado em Sistema de Produção) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira, 2011.

PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 40 p.

PAIVA H. N.; GOMES J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa 1993. 40 p.

PAULINO, J.; FOLEGATTI, M. V.; FLUMIGNAN, D. L.; ZOLIN, C. A.; BARBOSA JÚNIOR, C. R. A.; PIEDADE, S. M. S. Crescimento e qualidade de mudas de pinhão-manso produzidas em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 1, p. 3-46, 2011.

PEIXOTO, A. R. **Plantas oleaginosas arbóreas**. São Paulo: Nobel, 1973. 284 p.

PEREIRA, G. A. **Uso do gene *xylA* – xilose isomerase como agente de seleção na transformação genética de citros**. 2004. 38 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo- USP, Piracicaba, 2004.

PEREIRA, J. E. S; MATTOS, M. L. T; FORTES, G. R. L. Identificação e controle com antibióticos de bactérias endofíticas contaminantes em explantes de batata micropropagadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 7, p. 827-834, 2003.

RAJORE, S.; BATRA, A. Efficient plant regeneration via shoot tip explant in *Jatropha curcas*. **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**, New York, v. 14, n. 1, p. 73–75, 2005.

ROVERSI, T.; MATTEI, V. L.; SILVEIRA JÚNIOR, P.; FALCK, G. L. Superação da dormência em sementes de acácia negra (*Acacia mearnsii* Willd.). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 8, n. 2, p. 161-163, 2002.

SANTOS, A.P. dos.; XAVIER, A.; OLIVEIRA, M. L. de.; REIS, G. G. do. Efeito da estaquia, miniestaquia, microestaquia e micropropagação no desempenho silvicultural de clones de *Eucalyptus grandis*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 1, n. 68, p. 29-38, 2005.

SATURNINO, H. M.; PACHECO, D. D.; KAKIDA, J. ; TOMINAGA N.; GONÇALVES, N. P. Cultura do Pinhão Manso (*Jatropha curcas* L.). **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p. 44-78, 2005.

SEVERINO, L. S.; LIMA, R. L. S.; LUCENA, A. M. A.; FREIRE, M. A. O.; SAMPAIO, L. R.; VERAS, R. P.; MEDEIROS, K. A. A. L.; SOFIATTI, V.; ARRIEL, N. H. C. Propagation by stem cuttings and root system structure of *Jatropha curcas*. **Biomass and Bioenergy**, United Kingdom, v. 35, n. 7, p. 3160-3166, 2011.

SEVERINO, L. S.; LIMA, R. L. S.; LEÃO, A. B.; BELTRÃO, N. E. M. **Formação do sistema radicular de plantas de pinhão manso propagadas por mudas, estacas e sementes**. Campina Grande: EMBRAPA-CNPQ, 2007. 5 p. (Comunicado técnico, 348).

SEVERINO, L. S.; LIMA, C. L. D. de; FARIAS V. de A.; BELTRÃO, N. E. de M.; CARDOSO, G. D. **Produção de mudas de pinhão manso**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. Folder.

SHARMA, N. Effect on germination on raised bed and sunken bed nursery in different provenances of *Jatropha curcas* L. In: EXPERT SEMINAR on *Jatropha curcas* L. **Agronomy and genetics**. Wageningen: Plant Research International, 2007. 42 p.

SILVA, H. P.; NEVES, J. M. G.; BRANDÃO JUNIOR, D. S.; NASCIMENTO, P. S. Posição da semente na emergência de plântulas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). **Revista Agrarian**, Dourados, v. 2, n. 5, p. 81-86, 2009.

- SILVA, H. P.; NEVES, J. M. G.; BRANDÃO JUNIOR, D. S.; COSTA, C. A. Quantidade de água do substrato na germinação e vigor de sementes de pinhão manso. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 5, p. 178-184, 2008.
- SILVA, M. A.; BRANDÃO, D. S. J.; SILVA, H. P.; NEVES, J. M. G. Superação de dormência em sementes de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DO BIODIESEL 2., 2007, Brasília. **Anais...** Brasília: MCT, 2007.
- SILVA, J. T. S.; NHUT, D. T.; TANAKA, M.; FUKAI, S. The effect of antibiotics on the in vitro growth response of chrysanthemum and tobacco stem transverse thin cell layers (tTCLs). **Scientia Horticulture**, Netherlands, v. 97, n. 3, p. 397-410, 2003.
- SMIDERLE, O. J.; KROETZ, V. J. Produção de mudas de pinhão manso por estaquia em área de cerrado de Roraima. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS DE PINHÃO MANSO 1., 2009, Brasília-DF. **Anais...** Brasília-DF: Embrapa agroenergia, 2000. p. 1-4.
- SMIDERLE, O. J.; SOUZA, R. de C. P. de. Dormência em sementes de paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth - Fabaceae - Ppapilionidae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 25, n. 2, p. 48-52, 2003.
- SRISKANDARAJAH, S.; MULLINS, M. G.; NAIR, Y. Induction of adventitious rooting *in vitro* in difficult to propagate cultivars of apple. **Plant Science Letters**, Limerick, v. 24, n. 1, p. 1-9, 1982
- SUZUKI, A. N. **Protocolo para estabelecimento *in vitro* de *Jatropha curcas* L. através de explantes foliares**. 2012. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)- Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2012.
- TOMBOLATO, A. F. C; COSTA, A. M. M. **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1998. p. 15-17. (Boletim Técnico, 174).
- TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. M. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas: meios nutritivos**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPQ, 1998. v. 1, p. 87-116.
- VAZQUEZ, G. H.; LAZARINI, E.; RIBEIRO, T. C.; GRADELA, A. S.; SILVA, T. F.; VIANA, R. L. Produção de mudas de pinhão-manso via estaquia. **Revista Brasileira Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 14, n. 3, p. 97-105, 2010.
- VIANNA, V. F.; VEDOVATO, N. F.; TREVISOLI, S. H. U.; BIZARI, E. DI MAURO, A. O. Estabelecimento de gemas apicais de pinhão manso em meio de cultura contendo BAP (6-benzilaminopurina). In: SEMANA DE TECNOLOGIA DO CURSO DE BIOCOMBUSTÍVEIS DA FACULDADE DE TECNOLOGIA DE JABOTICABAL 3., 2010, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FATEC-JB, 2010. p. 1-2.
- YE, M.; CAIYAN, L.; FRANCIS, G.; MAKKAR, H. P. S. Current situation and prospects of *Jatropha curcas* as a multipurpose tree in China. **Agroforest System**, Dordrecht, v. 76, n. 2, p. 487-497, 2009.

ZHOU, A.; THOMSON, E. The development of biofuels in Asia. **Applied Energy**, Oxford, v. 86, n.1, p.11-20, 2009. Suplemento

ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; RODRIGUES, J. D. **Estaquia**: uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos. Curitiba: K. C. Zuffellato-Ribas, 2001. 39 p.

3 TRATAMENTOS PRÉ-GERMINATIVOS E SUBSTRATOS NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E QUALIDADE DE MUDAS DE PINHÃO MANSO (*Jatropha curcas* L.)

RESUMO

O pinhão manso pode ser propagado via assexuada ou sexuada. Utilizando-se estacas têm-se maior precocidade de produção e maior fidelidade das características da planta mãe. No entanto, verifica-se menor desenvolvimento vegetativo inicial. A partir de sementes as plantas tem maior variabilidade genética, são mais vigorosas ainda que iniciem a produção tardiamente. Para se ter muda de qualidade, o substrato é um fator importante. Com isso o objetivou-se com este trabalho avaliar tratamentos pré-germinativos e substratos na germinação de sementes e na qualidade de mudas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 6 x 3 (tratamentos pré-germinativos x substratos) totalizando 18 tratamentos com 4 repetições, sendo que cada unidade experimental foi composta por 8 sementes. Os tratamentos utilizados foram: T1: testemunha (sem tratamento); T2: imersão em água por 12 horas; T3: imersão em água por 24 horas; T4: escarificação mecânica; T5: escarificação mecânica + imersão em água por 12 horas; T6: escarificação mecânica + imersão em água por 24 horas. A escarificação foi realizada no lado oposto a micrópila utilizando lixa d'água 60. Após os tratamentos, as sementes foram colocadas para germinar em copos plásticos (200 mL) com os substratos comercial, vermiculita média expandida e areia grossa lavada. Avaliaram-se as características: porcentagem, índice de velocidade e tempo médio de germinação, comprimento médio da planta, diâmetro de caule, índice SPAD, massa fresca e seca da parte aérea e da raiz. Os resultados obtidos permitiram concluir que: em sementes de pinhão manso não há necessidade de realizar tratamentos pré-germinativos; o uso do substrato comercial proporcionou maior germinação das sementes e a vermiculita melhor desenvolvimento das plântulas.

Palavras-chave: Biodiesel. Imersão em água. Escarificação mecânica. Propagação sexuada.

**PRE-GERMINATIVE TREATMENTS AND SUBSTRATE ON SEEDS
GERMINATION AND QUALITY PHYSIC NUT SEEDLINGS (*Jatropha curcas* L.)**

ABSTRACT

The physic nut can be propagated asexually or sexually. Using cuttings have been earlier yield and more fidelity characteristics of the parent plant. However, there is less initial vegetative growth. The seeds from the plants have increased genetic variability, are more vigorous and begin production later. To get quality changes, the substrate is an important factor. With that the objective was to taste pre-germinated treatments and different substrate on seeds germination and quality physic nut seedlings. The experimental design was completely randomized, in factorial scheme 6 x 3 (pre-germinated treatments x substrate), 18 treatments and 4 repetition, 8 seeds to each repetition. The treatments utilized were: T1: witness (without treatments); T2: water immersion for 12 hours; T3: water immersion for 24 hours; T4: mechanical scarification; T5: mechanical scarification + water immersion for 12 hours; T6: mechanical scarification + water immersion for 24 hours. The mechanical scarification was realized opposite the micropyle using sandpaper n. 60. After the treatments, the seeds were germinated in plastic cups (200mL) with substrates commercial, expanded vermiculite and sand washed. We evaluated the characteristics: percentage, beginning and germination speed index, mean length of plant, diameter of plant stem, SPAD index, fresh and dry shoot and root. The results showed that: in seeds of *Jatropha* no need for pre-germinative treatments, the use of commercial substrate showed higher seed germination and seedling development better vermiculite.

Key words: Biodiesel. Immersion in water. Mechanical scarification. Sexually propagation.

3.1 INTRODUÇÃO

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) pertence à família Euphorbiaceae, e provavelmente é originário das Américas Central e do Sul (HELLER, 1996). É um arbusto de crescimento rápido, com altura normal de dois a três metros, podendo atingir até cinco metros (PEIXOTO, 1973), cujas sementes contêm teor de óleo entre 35 e 57%, produzindo de duas a quatro toneladas de óleo por hectare por ano. Essa característica coloca o pinhão manso em uma posição promissora entre as oleaginosas utilizadas para a produção de biodiesel (CARNIELLI, 2003).

A propagação do pinhão manso pode ser feita assexuada (vegetativa) ou sexuada, através de sementes (SEVERINO et al., 2006), com crescimento diferenciado das plântulas originadas vegetativamente ou via seminal. A propagação utilizando-se estacas possibilita maior precocidade de produção e reproduzem-se com características idênticas da planta mãe. Porém, verifica-se menor crescimento vegetativo inicial. Por outro lado, plantas estabelecidas a partir de sementes apresentam maior variabilidade genética em relação à planta mãe, são mais vigorosas ainda que iniciem a produção mais tardiamente.

Quando a propagação for através de sementes, estas devem ser obtidas de plantas vigorosas, saudáveis e com boa produtividade (ALVES et al., 2008). No entanto, após alguns meses de armazenamento, ocorrem problemas de irregularidades na germinação e perda do poder germinativo (SEVERINO et al., 2006).

Para que uma semente viável possa germinar são necessários: suprimento de água em quantidade suficiente; temperatura e composição de gases adequados, bem como de luz para determinadas espécies (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000), a escolha do substrato também tem fundamental importância nos resultados obtidos no teste de germinação (BRASIL, 1992).

O melhor método para a propagação do pinhão manso ainda não está definido, sendo que para o sucesso de uma lavoura, e a qualidade da muda é um fator importante, assim como o substrato adequado a ser utilizado (COSTA; CAMARGO, 2009).

Relatos feitos por Alves et al. (2002) e Andrade et al. (2006) demonstram que o substrato deve manter proporção adequada entre a disponibilidade de água e aeração e não deve ser umedecido em excesso, para evitar que a película de água envolva completamente a semente e diminua a entrada e absorção de oxigênio.

Segundo Diniz et al. (2006) e Oliveira et al. (2008) a vermiculita é normalmente um bom agente na melhoria das condições físicas do solo e, ainda apresenta-se quimicamente

ativa, liberando íons magnésio para a solução do solo e absorvendo fósforo e nitrogênio na forma amoniacal.

Diante do exposto objetivou-se com este trabalho avaliar os tratamentos pré-germinativos e substratos na germinação de sementes e na qualidade de mudas de pinhão manso.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

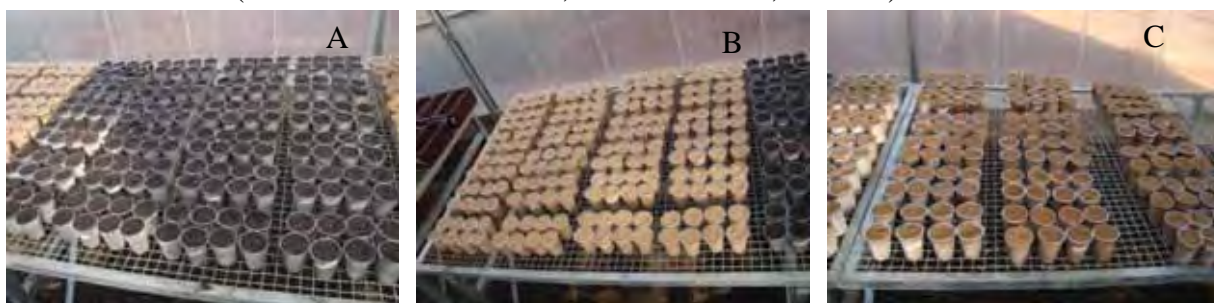
3.2.1 Caracterização do experimento

O experimento foi realizado na Faculdade de Engenharia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Ilha Solteira, localizado a 20°25'28" de latitude sul e 51°21'15" de longitude oeste, com altitude em torno de 354m, em casa de vegetação tipo Pad & Fan (sistema de resfriamento e umidificação), com temperatura média de 25°C e umidade relativa de 60%, no período de 20 de agosto a 20 de setembro de 2011.

As sementes utilizadas não passaram por tratamentos fitossanitários e foram provenientes de plantas matrizes com dois anos de idade, que foram propagadas por estaquia, na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia da UNESP de Ilha Solteira, localizada em Selvíria – MS, onde foram colhidas em 14 de Abril de 2011 e mantidas em câmara fria em temperatura de 4 °C e umidade relativa de 21%.

Após os tratamentos, as sementes foram colocadas para germinar em copos plásticos com capacidade de 200 mL, com os seguintes substratos: comercial Bioplant[®], vermiculita de textura média e areia grossa lavada. O experimento foi irrigado diariamente por aspersão automática, durante três minutos as 6, 12 e 18 horas. O aspecto geral do experimento pode ser visualizado na Figura 2.

Figura 2- Aspecto geral do experimento com tratamentos pré-germinativos com sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) em diferentes substratos. Ilha Solteira – SP, 2011. (Substratos: A=comercial, B= vermiculita, C=areia).



Fonte: Elaboração da própria da autora

3.2.2 Tratamentos Utilizados

Os tratamentos pré-germinativos utilizados foram: T1: Testemunha – sem tratamento pré-germinativo; T2: imersão em água por 12 horas; T3: imersão em água por 24 horas; T4: escarificação mecânica; T5: escarificação mecânica + imersão em água por 12 horas; T6: escarificação mecânica + imersão em água por 24 horas. A escarificação mecânica foi realizada no lado oposto a micrópila utilizando lixa d'água 60.

3.2.3 Variáveis Avaliadas

As características avaliadas foram:

- **Germinação (%):** contando-se o número de sementes germinadas quando houve a emissão do hipocótilo ao final dos 30 dias;

- **Índice de velocidade de germinação (IVG) e Tempo médio de germinação (TMG):** determinado mediante a contagem diária do número de plântulas normais identificadas no teste de germinação durante 30 dias e utilizando-se respectivamente, as fórmulas citadas por Maguire (1962) e Edmond e Drapala (1958);

$IVG = (G_1/T_1) + (G_2/T_2) + \dots + (G_n/T_n)$ e $TMG = (G_1T_1 + G_2T_2 + \dots + G_nT_n)/(G_1 + G_2 + \dots + G_n)$, onde:

G_1, G_2, \dots, G_n – número de plantas emergidas na primeira, segunda, ... , última contagem; e

T_1, T_2, \dots, T_n – tempo em dias da semente à primeira, segunda, ... , última contagem;

- **Altura das plântulas (cm):** foi realizado o comprimento das plantas no final do experimento (após 30 dias). Para a realização desta operação, foi utilizada uma régua graduada em centímetros e realizada a medida da região do colo até a gema apical;

- **Diâmetro médio do caule das plantas (cm):** A realização desta avaliação foi com o auxílio de um paquímetro digital com precisão de 0,01mm, no final do experimento em que os caules de todas as plântulas consideradas normais foram medidas na altura do colo da plântula;

- **Soil Plant Analysis Development (Índice SPAD):** medido com auxílio de clorofilômetro (Minolta SPAD-502), cujas leituras foram tomadas em duas folhas, uma no ápice e outra na parte mediana de cada planta, realizando uma leitura por folha, obtendo-se valores médios, 30 dias após a semeadura;

- **Massa Fresca e Massa Seca das Folhas e das Raízes (g):** a parte aérea foi separada das raízes e cada parte foi pesada individualmente, determinando assim a massa fresca de parte aérea e de raiz. Em seguida, foram colocadas em sacos de papel devidamente identificados, e colocados em estufa a 65°C por 72 horas, até atingir o peso constante, pesando-se novamente para obter a massa seca.

3.2.4 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6 x 3 (tratamentos pré-germinativos x substratos) totalizando 18 tratamentos com 4 repetições, sendo que cada unidade experimental foi composta por 8 sementes. Os dados de porcentagem de germinação foram transformados em arc sen raiz quadrada de $(x / 100)$, e os de massa fresca da folha e da raiz, massa seca da folha e da raiz em raiz quadrada de $(x+0,5)$, para a normalização de sua distribuição (BARTLETT, 1947). Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, utilizando-se o programa SANEST.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 contém os quadrados médios e os níveis de significância para as características avaliadas, verificando resultados significativos entre os tratamentos pré-germinativos para porcentagem de germinação (GER), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG) e índice SPAD. Em relação aos substratos houve diferença significativa para todas as características analisadas. Para a interação tratamentos pré-germinativos e substratos, os resultados foram significativos para: PGER, IVG e TMG.

Tabela 1 - Quadrados médios e níveis de significância das características avaliadas de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a tratamentos pré-germinativos e substratos. (GER= porcentagem de germinação, IVG = índice de velocidade de germinação, TMG = tempo médio de germinação, AP = altura da plântula, DC = diâmetro de caule) Ilha Solteira - SP, 2011.

Causa de variação	Quadrado Médio					
	GER (%)	IVG	TMG (dias)	AP (cm)	DC (mm)	Índice SPAD
Tratamentos (T)	798,53**	0,15*	1,03**	3,40 ^{ns}	0,50 ^{ns}	59,61*
Substratos (S)	2669,99**	0,43**	2,12**	395,38**	28,57**	390,97**
T x S	5426,96*	0,20**	0,77**	4,46 ^{ns}	1,14 ^{ns}	37,76 ^{ns}
C.V. (%)	24,75	28,79	32,25	17,608	12,83	21,31

** (p<0,01); * (p<0,05); ^{ns} (Não significativo); C.V.= coeficiente de variação

Fonte: Dados da pesquisa da autora

Em relação à porcentagem de germinação (Tabela 2), todos os tratamentos proporcionaram germinação das sementes. Analisando-se cada tratamento pré-germinativo nos diversos substratos pode-se observar que o tratamento que teve maior germinação, 96,77%, foi escarificação e imersão em água por 12 horas e o substrato vermiculita, não diferindo dos demais tratamentos. O mesmo não ocorreu quando as sementes germinaram em substrato comercial e areia, pois a maior porcentagem de germinação ocorreu quando não se realizou tratamento pré-germinativo, com 90,60% e 85,82%, de germinação, respectivamente.

As sementes de pinhão manso germinaram, mesmo quando o tegumento não foi rompido e imerso em água, concordando com Crepaldi et al. (1998). Eles relataram que a primeira fase da germinação é a embebição, que consiste na absorção de água pelas sementes, ocorrendo aumento de volume e peso das sementes e conseqüentemente o início dos processos fisiológicos.

Tabela 2 - Porcentagem de germinação de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a tratamentos pré-germinativos e substratos. Ilha Solteira – SP, 2011.

Tratamentos Pré-Germinativos	Germinação (%)		
	Substratos		
	Comercial	Areia	Vermiculita
Testemunha (sem tratamento)	90,60 aA	85,82aA	93,30aA
Água (12h)	80,25 aA	44,36aA	77,68aA
Água (24h)	59,64 abB	46,84aB	95,18aA
Escarificação	80,25 aA	77,10aA	68,92aA
Escarificação + Água (12h)	53,38 abB	39,47aB	96,77aA
Escarificação + Água (24h)	23,84 bB	46,84aB	85,82aA

Médias seguidas de letras distintas minúscula na coluna e maiúscula na linha diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Dados de pesquisa da autora.

Alguns trabalhos teve resultados diferentes dos encontrados no presente trabalho como, Mendes et al. (2009) em que tratamentos pré-germinativos contribuíram para aumentar a porcentagem de germinação das sementes de mamona, sendo que escarificação com lixa e a remoção da carúncula ou do tegumento foram os mais eficientes sem imersão em água. Já Niranjana et al. (2010) ao realizarem teste de germinação com sementes de três acessos de pinhão manso na Índia, no período de março a maio, com os tratamentos: semente sem tratamento, imersão em água fria por 12 horas, imersão em água quente (50 °C) por 15 minutos e imersão em água quente (60 °C) por 15 minutos, após 30 dias da semeadura obtiveram melhor resultado quando as sementes foram imersas em água fria por 12 horas (62%) diferindo dos demais tratamentos (51,00, 44,43, 44,43%, respectivamente).

Com relação aos substratos, Alves et al. (2002) e Andrade et al. (2006) relataram que o substrato deve manter proporção adequada entre a disponibilidade de água e aeração e não deve ser umedecido em excesso, para evitar que a película de água envolva completamente a semente e diminua a entrada e absorção de oxigênio; e segundo Diniz et al. (2006) e Oliveira et al. (2008) a vermiculita é normalmente um bom agente na melhoria das condições físicas do solo e, ainda é quimicamente ativa, liberando íons magnésio para a solução do solo e absorve fósforo e nitrogênio na forma amoniacal.

Na Tabela 3, onde constam os dados de IVG, observa-se para o desdobramento da interação entre tratamentos pré-germinativos e substratos que, a escarificação + imersão em

água por 12 horas (T5) e o substrato vermiculita, teve maior valor de IVG (1,17), e a escarificação + imersão em água por 24 horas (T6) proporcionou IVG de 0,97. O substrato comercial sem tratamento pré-germinativo (1,09) diferiu estatisticamente do tratamento escarificação + imersão em água por 24 horas (0,30), enquanto para areia, não houve diferença estatística entre os tratamentos, obtendo maior valor de IVG, 0,97, quando não se utilizou tratamento pré-germinativo (testemunha).

Em trabalhos realizados por Silva et al. (2008) com sementes de pinhão manso, foram encontrados valores de IVG de 1,86 para sementes com tegumento, semeadas em areia, e para sementes sem tegumento o IVG foi de 1,06, valores superiores ao encontrado no presente trabalho quando se utilizou a areia como substrato. Assim como, Melo et al. (2011) também verificaram que escarificação mecânica com lixa mais imersão em água por oito horas ocasionou maior IVG em sementes de faveira (*Parkia panurensis*).

Tabela 3 - Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a tratamentos pré-germinativos e substratos. Ilha Solteira - SP, 2011.

Tratamentos Pré-Germinativos	Índice de Velocidade de Germinação		
	Substratos		
	Comercial	Areia	Vermiculita
Testemunha (sem tratamento)	1,09 aA	0,97aA	0,84aA
Água (12h)	0,93 aA	0,54aB	0,81aAB
Água (24h)	0,68 abAB	0,56aB	1,07aA
Escarificação	0,88 aA	0,90aA	0,76aA
Escarificação + Água (12h)	0,69 abB	0,50aB	1,17aA
Escarificação + Água (24h)	0,30 bB	0,57aB	0,97aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Fonte: Dados de pesquisa da autora.

Para tempo médio de germinação (TMG), consta na Tabela 4 o desdobramento para a interação entre tratamentos pré-germinativos e substratos. Os substratos comercial e areia, não tiveram diferenças estatísticas entre os tratamentos. Para a vermiculita, a testemunha diferiu dos demais tratamentos, apresentando maior TMG (8,5).

Estudos realizados por Silva et al. (2009), com emergência de plântulas de pinhão manso utilizando como substrato areia lavada em canteiro, observaram que não houve

diferença significativa para os tratamentos estudados com relação ao TMG ao final de 21 dias, sendo que o tratamento: rafe para baixo, a germinação ocorreu com 16,96 dias, enquanto o tratamento carúncula para baixo o TMG foi de 16,24 dias, valores esses superiores ao encontrado neste trabalho.

Tabela 4 - Tempo médio de germinação (TMG) de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a tratamentos pré-germinativos e substratos. Ilha Solteira - SP, 2011.

Tratamentos Pré-Germinativos	Tempo Médio de Germinação (dias)		
	Substratos		
	Comercial	Areia	Vermiculita
Testemunha (sem tratamento)	6,35 aB	6,90 aB	8,50 aA
Água (12h)	6,65 aA	6,61 aA	7,16 bA
Água (24h)	7,15 aA	6,73 aA	6,95 bA
Escarificação	7,05 aA	6,91 aA	7,35 baA
Escarificação + Água (12h)	6,17 aA	6,62 aA	6,50 bA
Escarificação + Água (24h)	6,58 aA	6,70 aA	6,81 bA

Médias seguidas de letras distintas minúscula na coluna e maiúscula na linha diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Dados de pesquisa da autora.

Analisando conjuntamente as Tabelas 2, 3 e 4, nota-se que os substratos com maiores porcentagens de germinação (vermiculita e comercial), proporcionaram maiores IVG, e o substrato comercial menor TMG. Isso significa que quando se utiliza substrato comercial e o tratamento escarificação + imersão em água por 12 horas (6,17), às sementes precisaram de menos dias para iniciar o processo de germinação. Desta forma, as plântulas cultivadas em substrato comercial podem se tornar menos vulneráveis às condições adversas do meio, por emergirem mais rápido e passarem menos tempo nos estádios iniciais de desenvolvimento.

Em relação à altura da plântula, quando se utilizou o substrato comercial, as plantas obtiveram maior altura (12,17cm), diferindo dos demais tratamentos. O menor tamanho de plântula (4,45cm) ocorreu com o uso da vermiculita (Tabela 5).

A maior altura da plântula com uso do substrato comercial pode ter ocorrido pelo fato deste substrato conter em sua composição elementos que proporcionam o crescimento de plântulas como: casca de pinus e eucalipto, fibra e pó de coco, serragem de madeira, esterco, vermiculita, e adubos como superfosfato simples, carbonato de cálcio e magnésio, superfosfato de cálcio, entre outros. Estes resultados diferem dos encontrados por Medeiros et

al. (2010) e Camargo et al. (2011), que encontraram maiores alturas de plântulas de pinhão manso, 23,17cm, aos 90 dias quando utilizaram como substrato solo com diferentes porcentagens de esterco bovino (até 60%).

Para diâmetro do caule, o maior valor foi obtido com substrato comercial (7,49mm), seguido da areia (6,65mm) e da vermiculita (5,32mm) (Tabela 5). Estes resultados discordam daqueles encontrados por Dourado (2009), que estudando diferentes genótipos de pinhão manso, cultivados em vasilhas tipo marmitex com 1/3 de solo e 2/3 de areia, obteve maior diâmetro, 5,7cm, para o genótipo Paraguaçu, 36 dias após a semeadura.

Estudos realizados por Lima et al. (2011) com diferentes substratos para formação de mudas em condições de casa de vegetação, permitiram concluir que a mistura de composto de lixo + lodo de esgoto + terra, na proporção de 1:1:1, proporciona maior diâmetro (11,47cm). Já Camargo et al. (2011) estudando fontes e concentrações de matéria orgânica para produção de mudas de pinhão manso, aos 90 dias após a emergência, não observaram diferenças estatísticas para a variável diâmetro do caule, com relação a fonte de matéria orgânica, obtendo 9,97cm quando utilizou-se esterco bovino e 8,50cm para cama de frango. Para a concentração de matéria orgânica, foi verificado aumento linear no diâmetro de caule com valor de 23,9% maior na concentração de 60% de matéria orgânica no substrato em relação à testemunha.

Comparando as características altura e diâmetro da plântula, observa-se que o substrato comercial, que proporcionou maior altura corresponde ao substrato com plântulas de maior diâmetro de caule; esse fato pode evitar o tombamento das plântulas, já que possivelmente, um menor diâmetro pode interferir numa estrutura de sustentação pouco adequada ao seu porte. De acordo com Daniel et al. (1997) e Carneiro (2003) a característica diâmetro de caule é a mais indicada para inferir sobre a capacidade de sobrevivência da muda no campo.

A Figura 3 é ilustra o crescimento das plântulas de pinhão manso nos três substratos utilizados.

Figura 3 - Crescimento de plântulas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) nos substratos: A=comercial, B=areia, C=vermiculita. Ilha Solteira – SP, 2011.



Fonte: Elaboração da própria autora

Para o índice SPAD (Tabela 5) o substrato vermiculita proporcionou maior valor (24,83), diferindo estatisticamente dos demais. Com relação aos tratamentos utilizados, a escarificação teve índice SPAD de 23,98, diferindo dos tratamentos imersão em água (24h) (18,11) e escarificação + imersão em água (24h) (18,41). Os maiores índices SPAD em vermiculita podem ser devido à presença de Mg na sua composição, sendo que esse micronutriente compõem a molécula de clorofila (TAIZ; ZEIGER, 2004), e por conter muitos espaços porosos em sua composição, tem alta capacidade de retenção de água. Segundo Zotarelli et al. (2002) o medidor de clorofila SPAD-502 detecta a quantidade de cor verde na folha através da quantidade de luz de comprimento de onda da região vermelho e infravermelho. A quantidade de luz vermelha absorvida indica a quantidade de clorofila, enquanto que a quantidade de luz absorvida próximo ao infravermelho serve como uma referência interna na compensação da espessura da folha e conteúdo de água.

Estudos realizados em plantas de pinhão manso por Cavalcante et al. (2009), em condições de solo salinizados, as folhas apresentaram unidade SPAD de 39,6. Já Santos (2008) observou valores médios de 41,52 e 42,68 de leituras SPAD em folhas de pinhão manso, superiores ao encontrado neste trabalho com uso de substratos. O índice SPAD em substrato comercial foi inferior estatisticamente aos demais.

Tabela 5 - Valores médios de altura, diâmetro de caule e índice SPAD de plântulas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Ilha Solteira - SP, 2011.

	Altura da Plântula (cm)	Diâmetro do Caule (mm)	Índice SPAD
Substratos			
Comercial	12,17 a	7,49 a	16,78 c
Areia	10,48 b	6,65 b	20,27 b
Vermiculita	4,45 c	5,32 c	24,83 a
Tratamentos			
Testemunha (sem tratamento)	9,80a	6,70 ^a	21,26ab
Água (12h)	9,37a	6,25 ^a	21,91ab
Água (24h)	8,51a	6,72 ^a	18,11 b
Escarificação	8,66a	6,38 ^a	23,98 ^a
Escarificação + Água (12h)	9,30a	6,57 ^a	20,09ab
Escarificação + Água (24h)	8,55a	6,29 ^a	18,41b

Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade
 Fonte: Dados de pesquisa da autora.

Os quadrados médios e os níveis de significância das variáveis: massa fresca e seca da parte aérea, massa fresca e seca das raízes estão descritos na Tabela 6. As variáveis massa fresca e seca das raízes apresentaram resultados significativos para os tratamentos pré-germinativos. Houve resultados significativos para todas as variáveis analisadas, no fator substrato, e para a interação não houve significância.

Tabela 6 - Quadrados médios e níveis de significância das características avaliadas de plântulas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e substratos. (MFPA= massa fresca da parte aérea, MSF = massa seca da parte aérea, MFR = massa fresca da raiz, MSR = massa seca raiz). Ilha Solteira – SP, 2011.

Causa de variação	Quadrado Médio			
	MFPA	MSPA	MFR	MSR
	(g)			
Tratamentos	0,2 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,1 ^{**}	0,075 [*]
Substrato	11,56 ^{**}	10,31 ^{**}	0,9 ^{**}	0,68 ^{**}
Tratamentos x Substrato	0,1 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,027 ^{ns}	0,028 ^{ns}
C.V. (%)	18,31	18,35	14,16	14,61

** (p<0,01); * (p<0,05); ^{ns} (Não significativo); C.V.= coeficiente de variação

Fonte: Dados de pesquisa da autora.

O substrato comercial diferiu estatisticamente dos demais substratos, proporcionando valores para massa fresca e seca da parte aérea e das raízes, 9,18g, 7,91g, 1,37g e 1,17g (Tabela 7).

Para os tratamentos pré-germinativos nas características massa fresca e seca da raiz, a testemunha (T1) proporcionou maiores valores, 1,24g e 1,0g, respectivamente, diferindo estatisticamente apenas da lixa + imersão em água por 24 horas (T6) que obteve 0,64g para massa fresca de raízes e 0,53g para massa seca de raízes.

Com relação à produção de biomassa da parte aérea, Camargo et al. (2010) observaram na ausência do tratamento de semente, o maior acúmulo de matéria seca, e para o peso seco de raízes não houve diferença significativa para o fator tratamento de sementes. Assim como, Silva et al. (2009) também não observaram diferença estatística para massa seca da parte aérea e das raízes de pinhão manso em função da posição da semente utilizando como substrato a areia. Estudos realizados com compostos para produção de mudas de pinhão manso verificaram que a combinação de composto de lixo + torta de mamona + terra, na proporção de 1:1:1 (v/v/v) proporcionou valores de 9,55 e 2,02 para massa fresca da parte aérea e seca das raízes, respectivamente (LIMA et al., 2011).

No presente trabalho, o melhor resultado quanto à massa fresca e seca de raízes ocorreu com a utilização do substrato comercial. Provavelmente esses resultados ocorreram devido à areia e a vermiculita serem materiais inertes, enquanto o substrato comercial apresenta em sua composição adubos químicos.

Tabela 7 - Valores médios em gramas para massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa fresca da raiz (MSR) e massa seca da raiz (MSR) de plântulas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e substratos. Ilha Solteira - SP, 2011.

Substratos	MFPA	MSPA	MFR	MSR
	(g)			
Comercial	9,18 a	7,91 a	1,37 a	1,17 a
Areia	5,94 b	4,93 b	0,94 b	0,66 b
Vermiculita	2,49 c	1,59 c	0,46 c	0,42 c
Tratamentos				
Testemunha	2,54 ^a	2,34a	1,24 a	1,00 a
Água (12h)	2,60 ^a	2,42a	1,09 ab	0,89 ab
Água (24h)	2,37 ^a	2,20a	0,84 ab	0,68 ab
Escarificação	2,26 ^a	2,08a	0,77 ab	0,61 ab
Escarificação + Água (12h)	2,54 ^a	2,34a	0,85 ab	0,70 ab
Escarificação + Água (24h)	2,42 ^a	2,24a	0,64 b	0,53 b

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Dados de pesquisa do autor

3.4 CONCLUSÕES

Em sementes de pinhão manso não há necessidade de se realizar tratamento pré-germinativo, porém a utilização da escarificação + imersão em água por 12 horas proporcionou maiores porcentagens de germinação na vermiculita.

O substrato comercial melhorou a qualidade das mudas.

REFERÊNCIAS

ALVES, J. M. A.; SOUZA, A. de A.; SILVA, S. R. G. da; LOPES, G. N.; SMIDERLEO, J.; UCHOA, S. C. P. Pinhão-Manso: Uma Alternativa para Produção de Biodiesel na Agricultura Familiar da Amazônia Brasileira. **Agro@mbiente**, Boa Vista, v. 2, n. 1, p. 57-68, 2008. Disponível em: <<http://revista.ufr.br/index.php/agroambiente/article/view/160/92>>. Acesso em: 12 jan. 2013.

ALVES, E. U.; PAULA, R. C.; OLIVEIRA, A. P.; BRUNO, R. L. A.; DINIZ, A. A. Germinação de sementes de *Mimosa caesalpiniae folia* Benth. em diferentes substratos e temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 169-178, 2002.

- ANDRADE, A. C. S.; PEREIRA, T. S.; FERNANDES, M. J.; CRUZ, A. P. M.; CARVALHO, A. S. R. Substrato, temperatura de germinação e desenvolvimento pós-seminal de sementes de *Dalbergia nigra*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 3, p. 517-523, 2006.
- BARTLETT, M. S. The use of transformations. **Biometrics**, Washington, v. 3, n. 4, p. 39-52, 1947.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNAD, DNDV, CLAV, 1992. 365 p.
- CAMARGO, R.; PIRES, S. C.; MALDONADO, A. C. D.; CARVALHO, H. P.; COSTA, T. R. Avaliação de substratos para a produção de mudas de pinhão-mansão em sacolas plásticas. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Uberlândia, v. 5, n. 1, p. 31-38, 2011.
- CAMARGO, R.; MALDONADO, A. C. D.; SILVA, P. A.; COSTA, T. R. Biossólido como substrato na produção de mudas de pinhão-mansão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 12, p. 1304-1310, 2010.
- CARNEIRO, J. G. A. Produção e controle da qualidade de mudas florestais. In: TRIGUEIRO, R. de M.; GUERRINI, I. A. (ed.) Uso de biossólido como substrato para produção de mudas de eucalipto. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 16, n. 64, p. 150-162, 2003.
- CARNIELLI, F. **O combustível do futuro**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais- UFMG, 2003. (Boletim Técnico). Disponível em: <www.ufmg.br/boletim/bul1413> Acesso em: 1 abr. 2012.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.
- CAVALCANTE, P. G. S.; FILHO, H. C. L. W.; GONÇALVES, E. R.; VERISSIMO, V.; SILVA, I. M.; DUARTE, W. G.; PEREIRA, F. M. Avaliação do teor de clorofila em pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) sob estresse salino. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL 12., 2009, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBFV: UFC, 2009. 1 CD-ROM.
- COSTA, T. R.; CAMARGO, R. Produção de mudas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) em tubetes a partir de diferentes fontes de matéria orgânica. **Revista Horizonte Científico**, Uberlândia, v. 3, n. 1, p. 1-16, 2009.
- CREPALDI, I. C.; SANTANA, J. R. F. de; LIMA, P. B. Quebra de dormência de pau-ferro (*Caesalpinia férrea* Mart. exTul. – Leguminosae, Caesalpinioideae). **Sitientibus**, Feira de Santana, v. 5, n. 18, p. 19-29, 1998.
- DANIEL, O.; VITORINO, A. C. T.; ALOVISI, A. A.; MAZZOCHIN, L.; TOKURA, A. M.; PINHEIRO, E. R. SOUZA, E. F. Aplicação de fósforo em mudas de *Acacia mangium* Willd. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 21, n. 2, p. 163-168, 1997.

DINIZ, K. A.; GUIMARÃES, S. T. M. R.; LUZ, J. M. Q. Húmus como substrato para a produção de mudas de tomate, pimentão e alface. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 22, n. 3, p. 63-70, 2006.

DOURADO, F. N. **Avaliação da qualidade de sementes e plântulas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)** 2009. 102 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2009.

EDMOND, J. B.; DRAPALA, W. J. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. **Proceeding of American Society for Horticultural Science**, Geneva, v. 71, n. 1, p. 428-434, 1958.

HELLER, J. **Physic nut. *Jatropha curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops.** Rome: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetic Resources Institute., 1996. 66 p.

LIMA, R. L. S.; SEVERINO, L. S.; FERREIRA, G. B.; SOFIATTIS, V.; SAMPAIO, L. R.; BELTRÃO, N. E. M. Casca de mamona associada a quatro fontes de matéria orgânica para a produção de mudas de pinhão-manso. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n. 2, p. 232-237, 2011.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MEDEIROS, K. A. A. L.; SOFIATTI, V.; SILVA, H.; LIMA, R.; LUCENA, A. M. A.; VASCONCELOS, G. C.; ARRIEL, N. H. C. Mudas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) produzidas em diferentes fontes e doses de matéria orgânica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA 4.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE OLEAGINOSAS ENERGÉTICAS 1., 2010, João Pessoa. **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2010. p. 1413-1419.

MELO, M. das G. G.; MENDONÇA, M. S. de; NAZÁRIO, P.; MENDES, A. M. da S. Superação de dormência em sementes de três espécies de *Parkia* spp. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 533-542, 2011.

MENDES, R. de C.; DIAS, D. C. F. S.; PEREIRA, M. C.; BERGER, P. G. Tratamentos pré-germinativos em sementes de mamona (*Ricinus communis* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 187-194, 2009.

NIRANJAN, H. G.; RAMESH BABU, H. N.; RAJESHWARI, N.; SUDEER, S. Effect of presowing treatments on the germination and vigour of stored accessions of *Jatropha curcas* l. collected from different places of karnataka. **Research and Reviews in Biomedicine and Biotechnology**, Karnataka, v.1, n. 2, p. 94-100, 2010.

OLIVEIRA, J. R.; PAULO, M. W. de; CORRÊA, R. M.; REIS, E. S.; CARVALHO, M. A.; RODRIGUES, L. E.; REIS, M. M. dos. Cultivos agrícolas utilizando telas coloridas e termofletoras. In: JORNADA CIENTÍFICA 1., 2008, Bambuí. **Anais...** Bambuí: CEFET 2008. p. 1-5.

PEIXOTO, A. R. **Plantas oleaginosas arbóreas.** São Paulo: Nobel, 1973. 284 p.

SANTOS, C. M.; **Fenologia e capacidade fotossintética do pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) em diferentes épocas do ano no Estado de Alagoas**. 2008. 79 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2008.

SEVERINO, L. S.; VALE, L. S.; LIMA, R. L. S.; SILVA, M. I. L.; BELTÃO, N. E. M.; CARDOSO, G. D. **Danos ao sistema radicular da mamoneira devido à repicagem e corte da raiz principal**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. 4 p. (Comunicado Técnico, 308).

SILVA, H. P.; NEVES, J. M. G.; BRANDÃO JUNIOR, D. S.; NASCIMENTO, P. S. Posição da semente na emergência de plântulas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). **Revista Agrarian**, Dourados, v. 2, n. 5, p. 81-86, 2009.

SILVA, H. P.; NEVES, J. M. G.; BRANDÃO JUNIOR, D. S.; COSTA, C. A. Quantidade de água do substrato na germinação e vigor de sementes de pinhão manso. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 5, p. 178-184, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

ZOTARELLI, L.; CARDOSO, E. G.; PICCININ, J. L.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M.; TORRES, E.; ALVES, B. J. R. **Calibração do medidor de clorofila Minolta SPAD-502 para uso na cultura do milho**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2002. 4 p. (Comunicado Técnico, 55).

4 ÉPOCAS, TIPOS DE ESTACA E SUBSTRATOS NA PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DO PINHÃO MANSO (*Jatropha curcas* L.)

RESUMO

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) é uma planta que tem sementes com alto teor de óleo e se destaca para produção de biodiesel. Como ainda está em processo de melhoramento, uma solução para o problema da desuniformidade genética é a propagação assexuada. A utilização da reprodução vegetativa facilita o trabalho do melhorista, pois, uma vez identificada uma planta considerada superior, ela pode ser propagada, mantendo a sua característica genética. Desta forma, objetivou-se com este trabalho verificar a época, tipos de estaca e substratos na propagação vegetativa do pinhão manso. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 3 (substrato x estaca) totalizando 9 tratamentos com 3 repetições, sendo que cada unidade experimental foi composta por 10 estacas. Para efeito de comparação de época foi realizada análise conjunta. Foram utilizadas como estacas: ponteiro, parte mediana e basal, com aproximadamente 20cm de comprimento. O estaqueamento foi feito em jardineiras plásticas pretas com dimensões de 42 x 14 x 14 cm (comprimento x largura x profundidade), contendo como substratos: comercial Bioplant[®], vermiculita média expandida e areia grossa lavada. As características avaliadas foram: porcentagem de estacas vivas e enraizadas, número de brotos e número de folhas por estaca, massa fresca e massa seca da parte aérea e das raízes. Os resultados permitiram concluir que a melhor época para a propagação do pinhão manso é agosto; e o uso de estacas da parte basal e o uso dos substratos: vermiculita e comercial foram eficientes para produção de mudas de pinhão manso.

Palavras chave: Biodiesel. Enraizamento. Biodiesel. Vermiculita. Areia.

**TIME, TYPE OF CUTTING, AND DIFFERENT SUBSTRAT IN PROPAGATION OF
PHYSIC NUT (*Jatropha curcas* L.)**

ABSTRACT

Physic nut (*Jatropha curcas* L.) is a plant that has seeds with high oil content and stands for biodiesel production. As is still process improvement, asexual propagation is the solution to the problem of desuniformity genets. The use of vegetative reproduction facilitates the breeders work because, once identified a plant considered superior, it can be propagated, maintaining its genetic characteristics. Thus, the study aimed to verify the time, type of cutting and different substrates on vegetative propagation of physic nut. The experimental design used was completely randomized, in factorial scheme 3 x 3 (substrate x cutting), totaling 9 treatments with 4 repetition, each experimental unit was composed by 10 cuttings. For comparison period was performed joint analysis. Was used as cuttings: pointers, median and basal part, with along 20cm length. The staking was done in black vase plastic vase with dimensions of 42 x 14 x 14 cm (length x wide x depth), containing as substrates: commercial, expanded vermiculite and sand washed. The characteristics analyzed were: percentage of survival cuttings and rooting, number of shoots and number of leaves for cutting, fresh and dry shoot and root. The results showed that the best time for the propagation of physic nut is August, and the use of cuttings from the basal position and the use substrates commercial and vermiculite showed up for efficient production of physic nut seedlings.

Key words: Biodiesel. Rooting. Biodiesel. Vermiculite. Sand.

4.1 INTRODUÇÃO

Com a iniciativa do Programa Brasileiro de Biodiesel, o pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), uma planta Euphorbiaceae, foi incluído como uma alternativa de matéria-prima, baseando-se na expectativa de que a planta possua alta produtividade de óleo e tenha baixo custo de produção, por ser uma planta rústica (SATURNINO et al., 2005).

Para a concretização da produção de biodiesel em grande escala, é preciso também grandes produções de oleaginosas com alto potencial de produção de óleo por hectare. Assim, o pinhão manso reúne várias características que a tornam uma ótima opção para ser adotada como uma das alternativas de produção de biodiesel (NUNES, 2007).

Como o pinhão manso está em processo de melhoramento (BORÉM, 1997), a propagação assexuada é a solução para o problema da desuniformidade genética. A utilização da reprodução vegetativa facilita o trabalho do melhorista, pois, uma vez identificado uma planta considerada superior, ela pode ser propagada, mantendo a sua característica genética. O sucesso dessa técnica depende da facilidade de enraizamento de cada espécie, da qualidade do sistema radicular formado e do desenvolvimento posterior da planta (OLIVEIRA et al., 2001).

Segundo Severino et al. (2007) a propagação vegetativa por estaquia é um método simples porque o material apresenta facilidade na obtenção e transporte, o enraizamento inicia rápido, não há necessidade de utilização de tratamento físico ou hormonal e o florescimento ocorre seis meses após o plantio. A vantagem da propagação através de estacas é a geração de indivíduos idênticos geneticamente. Além disso, indivíduos propagados vegetativamente iniciam o período de produção mais precocemente (SATURNINO et al., 2005) e mostram alto sucesso e sobrevivência no estabelecimento inicial (ZAHAWI, 2005).

De acordo com o estágio de crescimento, as estacas podem ser classificadas como, herbáceas, semilenhosas e lenhosas. As herbáceas contem alta atividade meristemática e baixo grau de lignificação, as semilenhosas provêm de ramos não-lignificados oriundos de plantas lenhosas e as lenhosas tem alto grau de regeneração e são altamente lignificadas (FACHINELLO et al., 2005).

Segundo Peixoto (1973) as estacas utilizadas devem ser advindas de plantas sem pragas e doenças. Devem ter origem de galhos lenhosos com até dois anos de idade. Os ramos próximos da base do tronco são os melhores para a retirada das estacas. Dentre os fatores que condicionam o sucesso na formação de lavouras, está a qualidade das mudas, a qual está relacionada a fatores importantes, como a escolha correta do substrato a ser utilizado (COSTA; CAMARGO, 2009).

A produção de mudas em substratos é uma técnica amplamente empregada na maioria dos países e apresenta várias vantagens, entre elas a de exercer função de solo, fornecendo sustentação, nutriente, água e oxigênio à planta. A utilização de substratos específicos, com características mais adequadas a uma determinada cultura promove melhorias no desenvolvimento da planta, redução do tempo de cultivo e custo final do produto, favorecendo um melhor aproveitamento de outros fatores de produção (FERNANDES; CORÁ, 2001).

Devido à importância da cultura para a produção de biodiesel desenvolveu-se este trabalho com o objetivo de estudar a época, o tipo de estaca e os substratos para a produção de mudas de pinhão manso.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Caracterização do experimento

O experimento foi realizado na Faculdade de Engenharia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Ilha Solteira, localizada a 20°25'28" de latitude sul e 51°21'15" de longitude oeste, com altitude em torno de 354m, em casa de vegetação tipo Pad & Fan, com temperatura média de 25°C e umidade relativa de 60%, em duas épocas: de 10 de agosto a 10 de novembro de 2011 (inverno/primavera) e 2 de março a 2 de junho de 2012 (verão/outono).

O material vegetal foi retirado de plantas matrizes com 2 anos de idade, oriundo da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE), localizada em Selvíria – MS (51°22' de longitude oeste e 20°22' de latitude Sul, com 335m de altitude). O aspecto geral do experimento pode ser visualizado na Figura 4.

As plantas matrizes na primeira época (agosto) estavam em período de repouso vegetativo e na segunda época (março) em pleno florescimento.

Os tratos culturais realizados nas plantas matrizes foram: poda de produção, 3 capinas por ano, adubação com 250kg ha⁻¹ da fórmula 8-28-16, controle fitossanitário com 300mL por 100L de água do fungicida/bactericida Casugamicina (Kasumin[®]).

Figura 4- Aspecto geral do experimento com estacas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Ilha Solteira – SP, 2011. (A=estaca basal, apical, mediana e comercial Bioplant[®], B= basal, apical, mediana e vermiculita, C=basal, apical, mediana e areia).



Fonte: Elaboração da própria autora.

4.2.2 Tratamentos Utilizados

Os tratamentos utilizados foram constituídos da combinação de três tipos de estacas e três tipos de substratos, e foram realizados em duas épocas.

Foram utilizadas estacas: ponteiro, parte mediana e basal com aproximadamente 20cm de comprimento. O estaqueamento foi feito em jardineiras de polietileno com dimensões de 42 x 14 x 14 cm (comprimento x largura x profundidade), contendo como os substratos: comercial Bioplant[®], vermiculita de textura média e areia grossa lavada.

O experimento foi irrigado diariamente por aspersão automatizada, durante três minutos as 6, 12 e 18 horas.

4.2.3 Variáveis Avaliadas

As variáveis avaliadas após 90 dias da instalação do experimento foram:

- **Estacas sobreviventes (%)** – determinada contando-se o número de estacas vivas. Foram consideradas estacas vivas aquelas que apresentavam brotos e/ou raízes.
- **Estacas enraizadas (%)** – contando número de estacas com raízes, sendo expresso em porcentagem.
- **Número de Brotos** – contagem do número de brotos por estaca.

- **Número de Folhas** – realizada através de contagem simples de todas as folhas completamente expandidas por estacas.

- **Massa Fresca e Massa Seca da Parte Aérea e das Raízes (g):** a parte aérea e as raízes foram separadas das estacas e cada parte foi pesada individualmente, determinando assim a massa fresca de parte aérea e de raiz. Em seguida, foram colocadas em sacos de papel devidamente identificados, e colocados em estufa a 65°C por 72 horas, até atingir o peso constante, pesando-se novamente para obter a massa seca.

4.2.4 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 3 (tipos de estacas x substratos) totalizando 9 tratamentos com 3 repetições, sendo que cada unidade experimental foi composta por 10 estacas. Os dados de porcentagem de estacas vivas e de enraizamento das estacas foram transformados em arc sen raiz quadrada de $(x/100)$, e os dados de número de brotos e folhas em raiz quadrada de $(x + 0,5)$. Para efeito de comparação de época foi realizada análise conjunta. Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, utilizando-se o programa SANEST.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 8, observam-se os quadrados médios e os níveis de significância dos fatores estudados nos dois períodos para as variáveis: porcentagem de estacas vivas e estacas enraizadas, número de broto e folhas, massa fresca e massa seca das folhas e das raízes.

Na primeira época (agosto a novembro), houve resultados significativos para as variáveis: porcentagem de estacas enraizadas, número de brotos, número de folhas e massa fresca e seca da parte aérea para tipo de estacas; e para o fator substrato, as variáveis: massa fresca da parte aérea e massa seca e fresca das raízes tiveram resultados significativos. Não houve resultados significativos para a interação entre os fatores nas variáveis estudadas.

Para a segunda época estudada (março a junho), o fator estaca não teve resultados significativos para o número de brotos; já para substrato as variáveis porcentagem de estacas vivas e massa seca da raiz tiveram resultados significativos. A interação entre estacas e

substratos apresentaram resultados significativos para porcentagem de estacas vivas, massa fresca da parte aérea e massa fresca e seca das raízes.

Tabela 8 - Quadrados médios e níveis de significância de porcentagem de estacas sobreviventes (ES), porcentagem de estacas enraizadas (ER), números de brotos (BR), número de folhas (F), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa fresca da raiz (MFR) e massa seca da raiz (MSR) de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) propagadas em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012.

1ª Época (agosto a novembro 2011)									
Causa de Variação	ES	ER	BR	F	MFPA	MSPA	MFR	MSR	
	(%)		(Nº)			(g)			
Estaca (E)	63,1 ^{ns}	425,2 [*]	0,26 ^{**}	1,62 ^{**}	152,68 ^{**}	4,40 ^{**}	6,9 ^{ns}	0,1 ^{ns}	
Substrato (S)	667,8 ^{ns}	52,1 ^{ns}	0,009 ^{ns}	0,27 ^{ns}	106,76 [*]	3,36 ^{ns}	28,8 [*]	0,33 [*]	
E*S	112,0 ^{ns}	219,1 ^{ns}	0,035 ^{ns}	1,06 ^{ns}	7,87 ^{ns}	0,28 ^{ns}	13,5 ^{ns}	0,2 ^{ns}	
C.V. (%)	26,25	24,40	8,78	13,28	49,79	57,88	65,05	77,6	
Média Geral	55,85	41,00	1,68	2,75	9,71	1,75	3,39	0,38	
2ª Época (março a junho 2012)									
Estaca (E)	721,0 ^{**}	663,9 ^{**}	0,18 ^{ns}	0,94 ^{**}	141,34 ^{**}	6,02 ^{**}	14,6 [*]	0,5 ^{**}	
Substrato (S)	97,6 [*]	46,7 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,39 ^{ns}	32,97 ^{ns}	1,07 ^{ns}	3,6 ^{ns}	0,51 [*]	
E*S	172,1 ^{**}	218,8 ^{**}	0,13 ^{ns}	0,26 ^{ns}	26,56 ^{ns}	1,43 [*]	15,0 [*]	0,4 ^{**}	
C.V. (%)	14,62	22,59	12,89	12,76	39,00	48,31	58,45	58,5	
Média Geral	32,50	30,39	2,90	2,81	7,85	1,43	3,27	0,52	

** (p<0,01); * (p<0,05); ^{ns} (Não significativo), C.V.= (coeficiente de variação)

Fonte: Dados de pesquisa da autora.

Na Tabela 9 estão demonstradas as médias das duas épocas estudadas para porcentagem de estacas sobreviventes.

Para a estaquia realizada de agosto, verifica-se que a porcentagem de estacas sobreviventes proporcionou maiores valores com 71,73%, quando se utilizou estaca mediana, não tendo diferenças significativas entre os tratamentos. O substrato que obteve maior valor de estacas sobreviventes foi a vermiculita (77,92%), não diferindo dos demais tratamentos. Quando a estaquia foi realizada em março houve interação entre os fatores, onde a combinação da estaca basal com uso do substrato vermiculita proporcionou 60,14% de estacas sobreviventes. Segundo Arruda et al. (2004) para o êxito do plantio as estacas de pinhão manso devem ser retiradas dos ramos mais próximos da base do caule, ladrões ou rebentões,

sendo preferidos os ramos não muito grossos, retos, de entrenós curtos, casca lisa, acinzentadas e brilhantes, concordando com os resultados obtidos na segunda época neste trabalho.

Tabela 9 - Porcentagem de estacas sobreviventes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a substratos em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012.

1ª Época (agosto a novembro 2011)				
Substratos	Estaca			
	Apical	Mediana	Basal	Média Geral
Areia	58,55	50,00	46,64	51,74
Vermiculita	71,58	84,64	76,82	77,92
Comercial	60,14	77,73	83,64	74,34
Média Geral	63,53	71,73	70,03	
2ª Época (março a junho 2012)				
Substratos	Estaca			
	Apical	Mediana	Basal	Média Geral
Areia	10,00 bB	26,19aA	36,45aB	23,19
Vermiculita	13,01cB	30,00bA	60,14aA	33,69
Comercial	33,25abA	20,00bA	39,85aB	30,69
Média Geral	17,77	25,28	45,43	

Médias seguidas de letras distintas minúscula na linha e maiúscula na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Dados de pesquisa da autora.

Por outro lado, Fachinello et al. (1995) e Hartmann et al. (1997), citam que estacas herbáceas por terem regiões de constante atividade metabólica e de crescimento contínuo são geralmente estacas que possuem índices de sobrevivência superior às estacas lenhosas, quando não se utiliza regulador vegetal, resultados opostos ao encontrado no presente trabalho.

Em relação à porcentagem de enraizamento (Tabela 10), a estaca basal proporcionou maior valor (56,95%) na primeira época, diferindo estatisticamente da estaca apical (33,71%). Na segunda época a combinação da estaca basal com substrato vermiculita proporcionou 53,35% de enraizamento. Estes resultados estão de acordo com Arruda et al. (2004) que obtiveram maiores valores de enraizamento de estacas de pinhão manso, quando utilizou estacas colhidas de ramos lenhosos, localizados na base dos ramos. Sabe-se que existem diferenças marcantes na composição química da base ao ápice dos ramos e, assim, são

observadas variações na formação de raízes de estacas feitas de diferentes partes dos ramos (OLIVEIRA et al., 2001).

Tabela 10 - Porcentagem de estacas enraizadas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a substratos em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012.

1ª Época (agosto a novembro 2011)				
Substratos	Estaca			
	Apical	Mediana	Basal	Média Geral
Areia	43,16	36,59	39,59	39,68
Vermiculita	39,35	33,25	70,33	47,71
Comercial	20,00	46,64	60,64	41,76
Média Geral	33,71B	38,76AB	56,95A	
2ª Época (março a junho 2012)				
Substratos	Estaca			
	Apical	Mediana	Basal	Média Geral
Areia	10,00bB	22,15abA	36,45aA	21,87
Vermiculita	6,69cB	26,51bA	53,35aA	26,48
Comercial	33,25aA	20,00aA	33,25aA	28,60
Média Geral	15,12	22,83	40,90	

Médias seguidas de letras distintas minúscula na linha e maiúscula na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Dados de pesquisa da autora.

Pela análise conjunta, o período do ano interferiu na sobrevivência das estacas e no processo de enraizamento podendo afirmar que a estaquia realizada em agosto proporcionou maiores porcentagem de estacas vivas e enraizadas diferindo estatisticamente da estaquia realizada em março. Esse resultado pode ter ocorrido devido às estacas colhidas em agosto, terem maiores teores de reservas de carboidratos, devido às plantas se encontrarem em repouso vegetativo, tendo assim maior capacidade de regeneração. Quanto maior as reservas maiores serão a formação de raízes e sobrevivência. Fatores como temperatura amena, baixa intensidade luminosa, substrato e umidade, também favorecem o enraizamento e a sobrevivência das estacas. De acordo com Simonetto (1990) a época do ano está estreitamente relacionada com a consistência da estaca, onde estacas herbáceas têm maior capacidade de enraizamento. Estacas coletadas no período de crescimento vegetativo intenso (primavera/verão) tornam-se mais herbáceas, enquanto estacas coletadas no inverno (período de repouso vegetativo ou dormência) possuem maior grau de lignificação e tendem a enraizar menos (FACHINELLO et al., 1995; HARTMANN et al., 1990).

De acordo com Kochlar et al. (2008) os ramos começaram a produzir auxinas que se moveram para baixo, se acumularam na parte inferior da estaca de pinhão manso, e promoveram a formação de raízes.

Segundo Fachinello et al. (2005), as estacas lenhosas são mais lignificadas e apresentaram maior potencial de enraizamento devido apresentar nessa região maior teor de carboidratos. Por outro lado, Hartmann et al. (2004) relataram que as estacas caulinares colhidas da posição apical do ramo têm menor grau de lignificação, células meristemáticas com metabolismo mais ativo e ausência ou menor quantidade de compostos fenólicos, o que facilita o enraizamento e a brotação. Os mesmos autores relataram também que outro fator que influencia a capacidade de enraizamento das estacas é o teor de carboidratos visto que, ao longo do ramo, seu teor, tal como a quantidade de substâncias inibidoras ou promotoras do enraizamento, tem variações, constituindo, assim, um dos motivos pelos quais as estacas colhidas de diferentes porções do ramo tendem a diferir quanto ao potencial de enraizamento.

De acordo com Bastos et al. (2004) a formação de raízes em estacas está relacionada tanto a fatores internos quanto externos. Entre os fatores externos, a coleta de material vegetativo nas diferentes estações do ano, por exemplo, influencia diretamente no processo, gerando diferentes percentuais de enraizamento, o que varia de espécie para espécie. Essa influência se justifica, ao passo que a indução do sistema radicular se relaciona de maneira direta a alguns fatores ambientais, tais como temperatura, luz e umidade, fatores esses que variam conforme as diversas épocas do ano (HARTMANN et al., 2002; ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001). Para Hartmann et al. (2004) o potencial de enraizamento de estacas caulinares pode ser influenciado pela idade da planta matriz e pela posição da estaca no ramo.

Estudos realizados por Noor Camellia et al. (2009), em um experimento na Malásia onde testaram a propagação vegetativa de pinhão manso em areia no período de julho a setembro, obtiveram 79% de enraizamento quando utilizaram estacas herbáceas tratadas com 10.000 mg L⁻¹ de AIB.

Para número de brotos por estaca (Tabela 11) a estaca basal proporcionou maior valor (2,93), diferindo da estaca apical (1,76) para primeira época. Na segunda época não houve diferença estatísticas para os fatores estudados. Estes resultados concordam com resultados obtidos por Severino et al. (2011) que obtiveram maior número de brotos (5,7) com uso de estaca da base do ramo de pinhão manso diferenciando estatisticamente da estaca apical (2,3). Segundo o mesmo autor o número de brotos e raízes são características relacionadas com o estabelecimento inicial da planta.

Tabela 11 - Número médio de brotos por estacas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a substratos em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012.

1ª Época (agosto a novembro 2011)				
Substratos	Estaca			Média Geral
	Apical	Mediana	Basal	
Areia	1,81	2,29	3,32	2,44
Vermiculita	1,91	2,01	3,00	2,28
Comercial	1,58	2,71	2,49	2,23
Média Geral	1,76B	2,33AB	2,93A	
2ª Época (março a junho 2012)				
Substratos	Estaca			Média Geral
	Apical	Mediana	Basal	
Areia	2,87	1,94	3,92	2,86
Vermiculita	2,64	4,57	3,96	3,68
Comercial	2,60	2,72	3,43	2,91
Média Geral	2,70	2,99	3,77	

Médias seguidas de letras distintas minúscula na linha e maiúscula na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Dados de pesquisa da autora.

Segundo Gosh e Singh (2010) estacas da base do ramo também originaram plantas de pinhão manso com maiores números de brotos e raízes. Já Lima et al. (2010) verificaram em estacas de pinhão manso que o número de brotações aumentou linearmente de acordo com o incremento no comprimento das estacas, notando-se 3 brotos nas estacas com 10 cm e 5 brotos nas de 25 cm de comprimento.

Com relação ao número de folhas (Tabela 12) a estaca basal na primeira época proporcionou maiores valores (9,58) diferindo da estaca apical (4,90). Na segunda época a estaca basal teve número médio de 9,55 folhas, diferindo estatisticamente da estaca mediana (6,89) e apical (5,95). Estudos realizados por Araujo et al. (2009) testando a consistência do ramo no enraizamento de mini estacas de pinhão manso com e sem AIB, obtiveram maiores números de folhas sem o uso do regulador para a estaca lenhosa, com média de 23,47 folhas, valor esse maior que o encontrado no presente trabalho.

Tabela 12 - Média de números de folhas por estaca de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a substratos em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012.

1ª Época (agosto a novembro 2011)				
Substratos	Estaca			Média Geral
	Apical	Mediana	Basal	
Areia	4,70	6,62	8,01	6,38
Vermiculita	5,36	5,68	9,33	6,68
Comercial	4,66	9,16	11,56	8,21
Média Geral	4,90B	7,08AB	9,58A	
2ª Época (março a junho 2012)				
Substratos	Estaca			Média Geral
	Apical	Mediana	Basal	
Areia	4,90	5,45	8,16	6,10
Vermiculita	5,29	9,68	9,76	8,10
Comercial	7,86	5,89	10,81	8,07
Média Geral	5,95B	6,89B	9,55A	

Médias seguidas de letras distintas minúscula na linha e maiúscula na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Dados de pesquisa da autora.

Na Tabela 13 onde constam as médias para massa fresca da parte aérea nas duas épocas, verifica-se que para o fator estacas, a massa fresca da parte aérea, teve melhores resultados na primeira época quando se utilizou estacas basais (14,35), diferindo estatisticamente da estaca mediana (8,29) e apical (6,48). Na segunda época, a estaca basal proporcionou maiores valores (12,37) diferindo estatisticamente das estacas medianas (6,22) e apicais (4,97).

Os maiores valores observados para massa fresca da parte aérea quando se utilizou estacas basais pode estar relacionado com o maior número de folhas que as estacas basais apresentaram como mostrou a Tabela 11.

Tabela 13 - Média em gramas de massa fresca da parte aérea por estacas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a substratos em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012.

1ª Época (agosto a novembro 2011)				
Substratos	Estaca			Média Geral
	Apical	Mediana	Basal	
Areia	5,01	7,48	10,62	7,70b
Vermiculita	5,07	5,91	12,23	7,74b
Comercial	9,37	11,48	20,20	13,68 ^a
Média Geral	6,48B	8,29B	14,35A	
2ª Época (março a junho 2012)				
Substratos	Estaca			Média Geral
	Apical	Mediana	Basal	
Areia	4,52	5,45	11,61	7,19
Vermiculita	1,73	8,21	9,14	6,36
Comercial	8,67	5,00	16,37	10,01
Média Geral	4,97B	6,22B	12,37A	

Médias seguidas de letras distintas minúscula na linha e maiúscula na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Dados de pesquisa da autora.

Na Tabela 14 contem as médias de massa seca da parte aérea nas duas épocas estudadas. A estaca basal na primeira época apresentou maior valor (2,54g) diferindo estatisticamente da estaca apical (1,21g). Na segunda época o desdobramento da interação entre o tipo de estaca e os substratos mostrou que a estaca basal e o substrato comercial proporcionaram maiores valores (3,15g).

Estes resultados estão de acordo com Severino et al. (2011), que ao testarem tipos de estacas para propagação do pinhão manso, também observaram que estacas basais proporcionaram valores maiores para massa seca da parte aérea (10,1g) e massa seca da raiz (0,47g).

Estudos realizados por Vazquez et al. (2010) testando comprimento e posição do ramo, mostraram que estacas basais com 90cm de comprimento proporcionaram maiores massa seca da parte aérea (17,68g) diferindo estatisticamente das estacas apicais com 90cm (7,46g). O mesmo ocorreu quando utilizaram estacas basais com 30 cm de comprimento (6,92g), onde diferiu estatisticamente da estaca apical com 30 cm de comprimento (1,89g).

Lima et al. (2011) não obtiveram resultados significativos para massa seca de mudas de pinhão manso cultivadas em substratos compostos por misturas de casca de mamona. Por outro lado, Lima et al. 2010 observaram em mudas de pinhão manso, o valor de massa seca da

parte aérea com aproximadamente 7g em estaca de 23cm de comprimento, diminuindo o valor conforme aumentou o comprimento da estaca.

As características ideais de um substrato dependem das exigências da espécie cultivada, por isso dificilmente se encontra um material que reúna sozinho todas as condições nutricionais e físicas para o adequado crescimento das plantas (LIMA et al., 2006; LIMA et al., 2009).

Tabela 14 - Média em grama de massa seca da parte aérea de estacas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a substratos em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012.

1ª Época (agosto a novembro 2011)				
Substratos	Estaca			Média Geral
	Apical	Mediana	Basal	
Areia	0,79	1,37	1,77	2,45
Vermiculita	1,09	1,06	2,33	1,49
Comercial	1,77	2,05	3,52	2,45
Média Geral	1,21B	1,49AB	2,54A	
2ª Época (março a junho 2012)				
Substratos	Estaca			Média Geral
	Apical	Mediana	Basal	
Areia	0,59bA	1,14abA	2,26aAB	1,33
Vermiculita	0,23aA	1,53aA	1,67aB	1,14
Comercial	1,66bA	0,62bA	3,15aA	1,81
Média Geral	0,82	1,10	2,36	

Médias seguidas de letras distintas minúscula na linha e maiúscula na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Dados de pesquisa da autora.

Para massa fresca das raízes (Tabela 15), a primeira época proporcionou resultados significativos para substrato, onde o comercial obteve maior valor (5,44g) diferindo estatisticamente da vermiculita (2,13g) e da areia (2,60g). Estes resultados podem ter ocorrido devido o substrato comercial ser um produto resultante da combinação de adubos químicos NPK + micro, vermiculita, casca de pinus, fibra de coco, podendo assim proporcionar um melhor desenvolvimento das raízes. Pesquisas realizados por Maia et al. (2011) com nutrientes para produção de mudas de pinhão manso obtiveram maior valor para massa fresca da raiz 4,7g, quando não aplicou enxofre ao solo.

Tabela 15 - Média em gramas de massa fresca de raízes de estacas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a substratos em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012.

1ª Época (agosto a novembro 2011)				
Substratos	Estaca			
	Apical	Mediana	Basal	Média Geral
Areia	2,08	2,66	3,08	2,60b
Vermiculita	0,98	1,88	3,54	2,13b
Comercial	8,69	2,60	5,04	5,44 ^a
Média Geral	3,91	2,38	3,88	
2ª Época (março a junho 2012)				
Substratos	Estaca			
	Apical	Mediana	Basal	Média Geral
Areia	1,63bA	3,03abAB	6,77aA	3,81
Vermiculita	1,03bA	5,29aA	4,01abA	3,44
Comercial	3,88aA	0,58aB	3,24aA	2,57
Média Geral	2,18	2,97	4,68	

Médias seguidas de letras distintas minúscula na linha e maiúscula na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Dados de pesquisa da autora.

Com relação à massa seca das raízes (Tabela 16) o fator substrato na primeira época proporcionou resultado significativo, onde o comercial (0,50g) diferiu estatisticamente da vermiculita (0,23g). Na segunda época o desdobramento da interação entre os tipos de estacas e substratos mostrou que a estaca basal no substrato areia teve maior valor (1,45g). Segundo Lima et al. (2006) a quantidade de raízes é um fator importante para o vigor das plantas.

Estudos realizados por Camargo et al. (2011), onde avaliaram substratos para produção de mudas de pinhão manso aos noventa dias após a instalação do ensaio, verificaram, que quando utilizou como substrato esterco bovino, a massa seca da raiz foi 5,5g.

Para produção de mudas de pinhão-manso, Paulino et al. (2011) constataram que as propriedades físicas do substrato são essenciais para o pleno desenvolvimento das mudas, pois o cultivo de plantas em recipientes limita o desenvolvimento do sistema radicular, influenciando diretamente na absorção de água e nutrientes.

As pesquisas com o pinhão manso ainda são incipientes e pouco se conhece, principalmente em relação à propagação vegetativa. Contudo, Smiderle e Kroetz (2009) constataram que a utilização de estacas lenhosas desenvolvem melhor o sistema radicular,

sendo o mesmo verificado por Kockhar et al. (2008) e Noor Camellia et al. (2009), em comparação às estacas semilenhosas e herbáceas.

Tabela 16 - Média em gramas de massa seca de raízes de estacas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a substratos em duas épocas. Ilha Solteira – SP, 2012.

1ª Época (agosto a novembro 2011)				
Substratos	Estaca			Média Geral
	Apical	Mediana	Basal	
Areia	0,26	0,30	0,35	0,30ab
Vermiculita	0,11	0,19	0,40	0,23b
Comercial	0,99	0,25	0,55	0,50 ^a
Média Geral	0,45	0,25	0,45	
2ª Época (março a junho 2012)				
Substratos	Estaca			Média Geral
	Apical	Mediana	Basal	
Areia	0,25bA	0,69bA	1,45aA	0,79
Vermiculita	0,13aA	0,58aAB	0,50aB	0,41
Comercial	0,56aA	0,05aB	0,48aB	0,36
Média Geral	0,31	0,44	0,81	

Médias seguidas de letras distintas minúscula na linha e maiúscula na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Dados de pesquisa da autora.

4.4 CONCLUSÕES

A estaquia realizada em agosto proporcionou melhores resultados que em março.

O uso de estacas da parte basal do ramo e o uso dos substratos: vermiculita e comercial foram eficiente para produção de mudas de pinhão manso.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, E. C. E.; MERITO FILHO, C. H. A.; AZEVEDO, D. M. P. Interação entre doses de reguladores e consistência do ramo no enraizamento de miniestacas de pinhão-manso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS DE PINHÃO MANSO 1., 2009, Brasília. **Anais...** Brasília: Embrapa Agroenergia, 2009. 1 CD-ROM.

ARRUDA, F. P. de; BELTRÃO, N. E. de M.; ANDRADE, A. P. de; PEREIRA, W. E.; SEVERINO, L. S. 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.

BASTOS, D. C.; MARTINS, A. B. G.; SCALOPPI JÚNIOR, J.; SARZI, I; FATINANSI, J. C. Influencia do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas apicais e basais de caramboleira (*Averrhoa carambola* L.) sob condições de nebulização intermitente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 284-286, 2004.

BORÉM, A. **Melhoramento de plantas:** sistemas reprodutivos das espécies cultivadas (reprodução assexuada). Viçosa: UFV, 1997. p. 36-37.

CAMARGO, R.; PIRES, S. C.; MALDONADO, A. C. D.; CARVALHO, H. P; COSTA, T. R. Avaliação de substratos para a produção de mudas de pinhão-mansu em sacolas plásticas. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Uberlândia, v. 5, n. 1, p. 31-38, 2011.

COSTA, T. R.; CAMARGO, R. Produção de mudas de pinhão mansu (*Jatropha curcas* L.) em tubetes a partir de diferentes fontes de matéria orgânica. **Revista Horizonte Científico**, Uberlândia, v. 3, n. 1, p. 1-17, 2009.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. (Ed.). **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221 p.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. de L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2. ed. Pelotas: UFPEL, 1995. 179 p.

FERNANDES, C.; CORÁ, J. E. Substratos hortícolas. **Cultivar Hortaliças e Frutas**, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 32-34, 2001.

GOSH, L.; SINGH, L. Study of factors influencing vegetative propagation of *Jatropha curcas*. **Indian Forester**, Uttarakhand, v. 136, n. 1, p. 1637-1648, 2010

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2004. 880 p.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIS JÚNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7 ed. New York: Englewood Clippings, 2002. 880 p.

HARTAMANN, H. T.; KERSTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 6. ed. New Jersey: Prentice Hall, 1997. p. 276-501.

HARTAMANN, H. T.; KESTER, D. E; DAVIES JUNIOR, F. T. **Propagación de plantas: principios y practicas**. México: Campaña Editorial Continental, 1990. 760 p.

KOCHLAR, S.; SING, S. P.; KOCHAR, V. P. Effect of auxins and associated biochemical changes during clonal propagation of the biofuel plant - *Jatropha curcas*. **Biomass and Bioenergy**, United Kingdom, v. 32, n. 12, p. 1136-1143, 2008.

LIMA, R. L. S.; SEVERINO, L. S.; PEREIRA, W. E.; LUCENA, A. M. A.; GHREYI, H. R.; ARRIEL, N. H. C. Comprimento das estacas e parte do ramo para formação de mudas de pinhão-manso. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 11, p. 1234-1239, 2010.

LIMA, R. L. S.; SEVERINO, L. S.; SAMPAIO, L. R.; FREIRE, M. A. O.; BELTRÃO, N. E. M.; ARRIEL, N. H. C. Crescimento e teor foliar de nutrientes em mudas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) em substratos contendo cinco materiais orgânicos e fertilizante mineral. **Revista Brasileira Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 13, n. 1, p. 29-36, 2009.

LIMA, R. L. S.; SEVERINO, L. S.; SILVA, M. I. L.; JERÔNIMO, J. F.; VALE, L. S.; BELTRÃO, N. E. M. Substratos para produção de mudas de mamoneira compostos por misturas de cinco fontes de matéria orgânica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 3, p. 474-479, 2006.

MAIA, J. T. L. S.; GUILHERME, D. O.; PAULINO, M. A. O.; SILVEIRA, H. R. O.; FERNANDES, L. A. Efeito da omissão de macro e micronutrientes no crescimento De pinhão-manso. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 24, n. 2, p. 174-179, 2011.

NOOR CAMELLIA, N. A.; THOHIRAH, L. A.; ABDULLAH, N. A. P.; MOHD KHIDIR, O. Improvement on rooting quality of *jatropha curcas* using indole butyric acid (IBA). **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, Jordan, v. 5, n. 4, p. 338-343, 2009.

NUNES, C. F. **Caracterização de frutos, sementes e plântulas e cultivo de embriões de pinhão manso** (*Jatropha curcas* L.). 2007. 78 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

OLIVEIRA, M. C.; RIBEIRO, J. F.; RIOS, M. N. S.; REZENDE, M. E. **Enraizamento de estacas para produção de mudas de espécies nativas de matas de galeria**. Brasília: Embrapa Cerrados, 2001. 4 p. (Recomendação Técnica, 41).

PAULINO, J.; FOLEGATTI, M. V.; FLUMIGNAN, D. L.; ZOLIN, C. A.; BARBOSA JÚNIOR, C. R. A.; PIEDADE, S. M. S. Crescimento e qualidade de mudas de pinhão-manso produzidas em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 1, p. 3-46, 2011.

PEIXOTO, A. R. **Plantas oleaginosas arbóreas**. São Paulo: Nobel, 1973. 284 p.

SATURNINO, H. M.; PACHECO, D. D.; KAKIDA, J.; TOMINAGA N.; GONÇALVES, N. P. Cultura do Pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Produção de oleaginosas para biodiesel. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p. 44-74, 2005.

SEVERINO, L. S.; LIMA, R. L. S.; LUCENA, A. M. A.; FREIRE, M. A. O.; SAMPAIO, L. R.; VERAS, R. P.; MEDEIROS, K. A. A. L.; SOFIATTI, V.; ARRIEL, N. H. C. Propagation by stem cuttings and root system structure of *Jatropha curcas*. **Biomass and Bioenergy**, United Kingdom, v. 35, n. 7, p. 3160-3166, 2011.

SEVERINO, L. S.; LIMA, R. L. S.; LEÃO, A. B.; BELTRÃO, N. E. M. **Formação do sistema radicular de plantas de pinhão manso propagadas por mudas, estacas e sementes.** Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 2007. 5 p. (Comunicado Técnico, 348).

SIMONETTO, P. R. **Propagação de *Pyrus calleryana* Dcne e *Pyrus betulaefolia* bunge, portaenxertos para pereira, através do processo de estaquia.** 1990. 59 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1990.

SMIDERLE, O. J.; KROETZ, V. J. Produção de mudas de pinhão manso por estaquia em área de cerrado de Roraima. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS DE PINHÃO MANSO 1., 2009, Brasília-DF. **Anais...** Brasília-DF: Embrapa Bioenergia, 2009. 1 CD-ROM.

VAZQUEZ, G. H.; LAZARINI, E.; RIBEIRO, T. C.; GRADELA, A. S.; SILVA, T. F.; VIANA, R. L. Produção de mudas de pinhão-manso via estaquia. **Revista Brasileira Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 14, n. 3, p. 97-105, 2010.

ZAHAWI, R. A. Establishment and growth of living fence species: an overlooked tool for the restoration of degraded areas in the tropics. **Restoration Ecology**, Washington, v. 13, n. 1, p. 92-102, 2005.

ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; RODRIGUES, J. D. **Estaquia:** uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos. Curitiba: K. C. Zuffellato-Ribas, 2001. 39 p.

5 DESINFESTAÇÃO *IN VITRO* DE GEMA APICAL DE PINHÃO MANSO *Jatropha curcas* L.): TEMPOS DE IMERSÃO E CONCENTRAÇÕES DE CLORO ATIVO

RESUMO

O pinhão manso é uma planta em fase de domesticação, sendo necessário para a sua expansão produção de mudas de qualidade para que possa alcançar altas produtividades. Assim a propagação *in vitro* pode auxiliar na produção eficiente com alta qualidade fitossanitária e genética, com alta produção de mudas em um curto período. Com isso, objetivou-se com este trabalho estabelecer um à propagação *in vitro* por meio de gemas apicais, envolvendo a fase de desinfestação *in vitro* do pinhão manso. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos, cinco repetições, sendo que cada repetição foi representada por seis tubos contendo um explante cada. Os tratamentos utilizados foram: T1 – sem cloro ativo, T2 - 1,5% de cloro ativo durante 2,5 minutos, T3 – 1,5% de cloro ativo durante 5 minutos, T4 – 2,5% de cloro ativo durante 2,5 minutos e T5 – 2,5% de cloro ativo durante 5 minutos. O meio de cultivo utilizado no experimento foi o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Após 30 dias foram avaliadas as porcentagens de contaminação por bactérias e fungos e de explantes vivos. Os resultados permitiram concluir que: os explantes imersos em cloro ativo a 2,5% durante 2,5 minutos reduziu em 87,5% a contaminação por fungos e resultou em 95,83% de explantes sobreviventes. Porém devido a 100% de contaminação por bactéria, recomenda-se realizar novos experimentos em épocas diferentes e/ou a utilização de agentes com ação bactericida.

Palavras chave: Biodiesel. Micropropagação. Assepsia. Cultura de tecido.

**DESINFESTATION *IN VITRO* APICAL BUDS OF PHYSIC NUT (*Jatropha curcas* L.):
TIME OF IMMERSION AND CONCENTRATION OF ACTIVE CHLORO**

ABSTRACT

Physic nut is a plant in the process of domestication, being necessary to the production expansion of quality seedlings so you can reach high productivity. Thus the *in vitro* propagation can assist efficient production with high quality and plant genetics, with high seedlings production in a short period. Thus, the objective was to establish a protocol for *in vitro* propagation through apical buds, involving the *in vitro* phase disinfestations of physic nut. The treatments were: T1: without active chloro, T2: 1.5% of active chloro + immersion in 2.5 minutes, T3: 1.5% of active chloro + immersion in 5.0 minutes, T4: 2.5% of active chloro + immersion in 2.5 minutes, T5: 2.5% of active chloro + immersion in 5.0 minutes. The culture medium used in the experiment was MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962). Data were subjected to analysis of variance and means were compared by Tukey test at 5% probability. After 30 days were evaluated percentages of contamination by fungi and bacteria and explants alive. The results showed that: the explants immersed in active chloro at 2.5% for 2.5 minutes decreased by 87.5% to fungal contamination and resulted in 95.83% of explants survivors. But due to 100% contamination by bacteria, it is recommended to carry out further experiments at different times and/or the use of agents with bactericidal action.

Key words: Biodiesel. Micropropagation. Asepsis. Tissue culture.

5.1 INTRODUÇÃO

A cultura do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) tem grande expansão devido as suas características de rusticidade e adaptabilidade às diversas condições climáticas (ARRUDA et al., 2004). Porém, apesar de a cultura ser promissora como fonte de biodiesel, por seu óleo ser de excelente qualidade, ainda é uma planta em domesticação e pouco se conhece sobre a sua propagação (MARQUES et al., 2008; SUJATHA et al., 2005).

O uso de técnicas modernas como a micropropagação, a manipulação genética e a biologia molecular estão sendo utilizadas para o melhoramento genético de plantas para o desenvolvimento de novas variedades. Uma das práticas mais utilizadas é a micropropagação, que hoje é responsável pela produção de espécies com finalidade comercial (PEREIRA, 2004).

O sucesso na micropropagação depende, em primeiro lugar, de um protocolo de assepsia e estabelecimento *in vitro*, onde o maior número de explantes assépticos, a menor produção de compostos fenólicos e a maior porcentagem de sobreviventes são essenciais para a multiplicação (FERMINO JÚNIOR et al., 2009).

Para a fase de estabelecimento *in vitro* de uma cultura a maior dificuldade está em obter explantes livres de contaminação por fungos e bactérias (SOUSA et al., 2007). Segundo os mesmos autores a contaminação se estabelece no meio de cultivo e/ou no material vegetal competindo pelos nutrientes, produzindo substâncias tóxicas e inibindo o desenvolvimento do explante, ocasionando, assim, sua perda.

Na desinfestação do explante, a maior dificuldade é obter a descontaminação sem conduzi-los à morte quando isolados. Para isso, várias substâncias com ação germicida são utilizadas na desinfestação. Os mais comuns são o etanol e os compostos a base de cloro, tais como o hipoclorito de sódio e de cálcio (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Diversos fatores são determinantes, entre eles a concentração dos agentes desinfestantes, o tempo de exposição dos explantes que podem variar muito os índices de contaminação de acordo com a espécie e a sensibilidade do tecido a ser desinfestado (CHAVES et al., 2005; FERREIRA et al., 2009).

O hipoclorito de sódio (NaClO) é usado geralmente na ordem de 2% ou mais, de 5 a 30 minutos. Na micropropagação vegetal, as soluções de hipoclorito de sódio comercial são amplamente empregadas nos processos assépticos das fontes de explante para o estabelecimento inicial *in vitro*.

De acordo com Barboza et al. (2007) a assepsia em pinhão manso entre 15 e 45 dias após inoculação em meio MS, as concentrações de hipoclorito de sódio utilizadas para limpeza dos explantes, não foram eficientes para eliminar os contaminantes externos, dos segmentos da base foliar e segmentos internodais que tiveram, respectivamente, 80 e 100% contaminados.

Relatos feitos por Oliveira et al. (2000) sugere que mesmo com todos os cuidados na assepsia em biofábricas brasileiras, já foram registradas porcentagens de contaminação superiores a 30% causadas tanto por fungos como por bactérias.

Objetivou-se com este trabalho testar a eficiência do cloro ativo (NaClO) na desinfestação de gemas apicais de pinhão manso.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Micropropagação pertencente Universidade Estadual Paulista - Campus de Ilha Solteira no período de 13 de novembro a 12 de dezembro de 2011.

5.2.1 Obtenção do Material Vegetal

Foram utilizadas como explantes gemas apicais de pinhão manso, retirados de plantas, propagadas por estaquia, com 1 ano de idade, cultivadas em vasos plásticos com capacidade de 20L de solo, em ambiente externo, na mesma Universidade, localizada a 20°25'28'' de latitude sul e 51°21'15'' de longitude oeste com altitude média de 354m.

As plantas mantidas em vasos receberam os seguintes tratos culturais: foram podadas em setembro, adubadas com a 30g por vaso da fórmula 8-28-16 e irrigadas, de acordo com as necessidades da cultura.

As gemas apicais foram coletadas, com aproximadamente 3 cm de comprimento, com o auxílio de tesoura, e armazenadas em recipientes com água até coletar todo o material. No laboratório as gemas foram mantidas em recipiente com água destilada e lavadas com detergente neutro durante cinco minutos. Após a lavagem as gemas apicais foram seccionadas com bisturi esterilizado permitindo assim a redução de seu tamanho a aproximadamente 2 cm de comprimento e levadas para câmara de fluxo para realizar os tratamentos do experimento.

5.2.2 Assepsia

Na câmara de fluxo as gemas foram imersas em álcool 70% por cinco minutos. Os tratamentos de assepsia foram baseados em ensaios pilotos (dados não apresentados) para o cultivo *in vitro* de pinhão manso, e com isso foram realizados os seguintes tratamentos: T1 – sem cloro ativo, T2 – 1,5% de cloro ativo durante 2,5 minutos, T3 – 1,5% de cloro ativo durante 5,0 minutos, T4 – 2,5% de cloro ativo durante 2,5 minutos, 2,5% de cloro ativo durante 5,0 minutos. Utilizou-se como fonte de cloro ativo água sanitária (QBoa[®]). Após a assepsia as gemas foram lavadas três vezes com água destilada autoclavada, dentro da câmara de fluxo laminar por aproximadamente 10 minutos.

5.2.3 Estabelecimento *in vitro*

As gemas foram cultivadas em tubos de ensaio contendo 15 mL do meio composto pelos sais MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com sacarose a 30 g L⁻¹ e o solidificante Phytigel[®] a 2,5 g L⁻¹, com pH ajustado para 5,7 ± 0,1 antes da autoclavagem (esterilização) a 120°C com 1 Kgf cm⁻² durante vinte minutos. A fase de estabelecimento foi realizada em sala de crescimento com temperatura de 22 ± 3 °C. Os explantes foram mantidos em fotoperíodo de 16 horas de luz a uma intensidade luminosa de 30 µmol m⁻² s⁻¹.

5.2.4 Variáveis Avaliadas

As avaliações foram realizadas ao final de 30 dias verificando-se as características de contaminações fúngicas e bacterianas (determinadas por avaliação visual da presença de fungos e/ou bactérias no meio de cultivo e/ou no explante), e explantes vivos, cujos valores foram expressos em porcentagem.

5.2.5 Delineamento experimental e Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos, cinco repetições, sendo que cada repetição foi representada por seis tubos contendo um explante cada. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2008).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância, pode-se observar que houve 100% de contaminação por bactérias, e diferença estatística para porcentagem de fungos e de explantes vivos (Tabela 17).

Tabela 17 - Quadrados médios da análise de variância e níveis de significância referentes à porcentagem de contaminação por bactérias e fungos, e porcentagem de explantes vivos de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Ilha Solteira - SP, 2011.

Causa de Variação	Contaminação (%)		Explantes Vivos (%)
	Bactérias	Fungos	
Tratamentos	0,0	8302,08**	5083,33**
C.V. (%)	0,0	48,72	26,96

** (p<0,01); ^{ns} (Não significativo), C.V.= (coeficiente de variação)

Fonte: Dados de pesquisa da autora.

Houve 100% de contaminação por bactéria em todos os tratamentos testados (Tabela 18). Este resultado pode ter ocorrido devido às plantas matrizes serem cultivadas em vasos em ambiente externo, não terem sido realizados tratamentos fitossanitário e a época em que foi realizado o experimento, correspondeu a um período quente e chuvoso, propiciando maiores contaminações. Porém, mesmo com 100% de contaminação, os índices de explantes vivos foram elevados.

Tabela 18 - Porcentagem de explantes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) contaminados por bactéria, fungos e vivos. Ilha Solteira – SP, 2012.

Tratamentos		Contaminação (%)		Vivos (%)
Cloro Ativo (%)	Tempo Imersão (minutos)	Bactéria	Fungo	
0	0	100 a	100,0 a	25,00 b
1,25	2,5	100 a	20,83 b	87,50 a
1,25	5,0	100 a	25,00 b	87,50 a
2,5	2,5	100 a	12,50 b	95,83 a
2,5	5,0	100 a	12,50 b	87,50 a

Médias seguidas de letras distintas minúscula na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Dados de pesquisa da autora.

A contaminação bacteriana ocorreu, já nos sete primeiros dias, na base dos explantes (Figura 5).

Figura 5 - Explante de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) *in vitro* contaminado por bactéria. Ilha Solteira – SP, 2011.



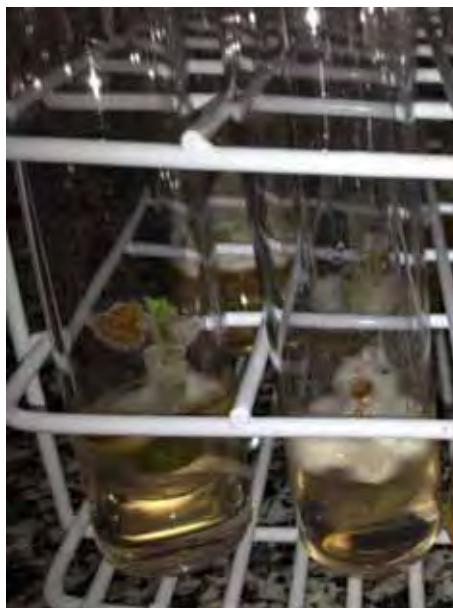
Fonte: Elaboração da própria autora

Estes resultados estão de acordo com Barboza et al. (2007) onde trabalhando com assepsia em pinhão manso constatou aos 15 e 45 dias após a inoculação em meio MS, que as concentrações de hipoclorito utilizadas para limpeza dos explantes, não foram eficientes para eliminar os contaminantes externos, dos segmentos da base foliar e segmentos internodais que tinham, respectivamente, 80 e 100% contaminados.

Segundo Niedz e Bausher (2002) embora o hipoclorito de sódio seja um dos agentes esterilizantes mais utilizados na micropropagação, sua ação germicida se dá de forma mais efetiva no controle de microrganismos contaminantes que se encontram na superfície dos tecidos. O desenvolvimento de bactérias, geralmente de natureza endofítica, é de difícil controle e, nesse caso, o hipoclorito em solução, mesmo em altas concentrações, não se torna eficiente.

Para a porcentagem de contaminação por fungos (Tabelo 18), os tratamentos mais eficientes (2,5% cloro ativo (v/v) por 2,5 minutos de imersão e 2,5% cloro ativo (v/v) por 5 minutos de imersão) tiveram 12,50% de contaminação, diferindo estatisticamente do tratamento sem cloro ativo. Os fungos apareceram nos explantes sete dias após a inoculação (Figura 6).

Figura 6 - Explantes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) *in vitro* contaminados por fungos. Ilha Solteira – SP, 2011.



Fonte: Elaboração da própria autora

Estudos realizados por Campos et al. (2007) com inoculação *in vitro* de segmentos nodais de *Jatropha elliptica* desinfestados com lavagem e imersão em solução de 1% de NaClO em meio de cultivo MS. A taxa de contaminação dos explantes foi de 19,3%, a maioria deles contaminado por fungos do gênero *Fusarium*. Os mesmos autores colocaram que o estabelecimento *in vitro* de explantes provenientes de material *in vivo* é uma das fases mais críticas da propagação, já que são vários os fatores que afetam o índice de sobrevivência, como os agentes patogênicos, a resistência do explante aos procedimentos de desinfestação, as taxas de oxidação e a adequação do material às condições de cultivo.

Segundo Oliveira et al. (2000) mesmo com todos os cuidados com assepsia em biofábricas brasileiras, já foram registradas porcentagens de contaminação superiores a 30% causadas tanto por fungos como por bactérias. Assim como, George (1996), cita que a concentração e o tempo de exposição aos desinfestantes dependem do material vegetal, sendo que, diferentes partes da planta têm respostas variadas quanto à sensibilidade dos tecidos.

Com relação à porcentagem de explantes vivos, quando se utilizou cloro ativo, os explantes tiveram índice de sobrevivência acima de 80%, enquanto o tratamento sem cloro ativo o índice foi de 25%. É recomendado que os explantes vivos passem por uma nova assepsia antes da repicagem. Estes resultados não estão de acordo encontrados por Feitosa (2011), que obteve 100% de explantes vivos quando utilizou $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ NaOCl por 5 minutos utilizando folhas de pinhão manso como explante.

Estes resultados confirmam que a concentração do desinfestante e o tempo de exposição varia de acordo com o material vegetal utilizado (GEORGE, 1993). Entretanto, Fermino Júnior et al. (2009) discutiram que o sucesso da técnica de micropropagação tem como seu ponto de partida a recomendação de um protocolo de assepsia e estabelecimento *in vitro* com o maior número de explantes assépticos, menor produção de compostos fenólicos (oxidação) e com maior sobrevivência dos explantes para as etapas seguintes.

5.4 CONCLUSÕES

O uso do cloro ativo foi eficiente no controle de contaminação por fungos e na porcentagem de explantes sobreviventes. Porém devido a 100% de contaminação por bactéria, recomenda-se realizar novos experimentos em épocas diferentes e/ou a utilização de agentes com ação bactericida.

REFERÊNCIAS

- ARRUDA, F. P.; BELTRÃO, N. E. M.; ANDRADE, A. P.; PEREIRA, W. E.; SEVERINO, L. S. Cultivo de pinhão-mansão (*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.
- BARBOZA, S. B. S. C.; SOUSA, J. A.; SANTANA, M. C. S.; LÉDO, A. S.; OLIVEIRA, I. R. Avaliação de métodos de assepsia e tipos de explantes para estabelecimento *in vitro* de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS 16.; SIMPÓSIO DE PLANTAS ORNAMENTAIS NATIVAS 1.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 3., 2007, Goiânia. **Anais...** Goiânia: UFG, 2007. 1CD-ROM.
- CAMPOS, R. A. S.; AÑEZ, L. M. M.; DOMBROSKI, J. L. D.; DIGNART, S. L. Micropropagação de *Jatropha elliptica* (Pohl) Müll. Arg. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 3, p. 30-36, 2007.
- CHAVES, A. da C.; SCHUCH, M. W. ; ERIG, A. C. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* L. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 6, p. 1281-1287, 2005.
- FERMINO JUNIOR, P. C.; NAGAO, E. O.; PEREIRA, J. E. S. Estabelecimento, germinação e multiplicação *in vitro* de teca (*Tectona grandis* L.f.) a partir de genótipos da Amazônia Sul-Occidental. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 37, n. 84, p. 427-435, 2009.

FERREIRA, M. G. R.; SANTOS, M. R. A.; BRAGADO, A. C. R. Propagação *in vitro* de cupuaçuzeiro: desinfestação de explantes florais. **Saber Científico**, Porto Velho, v. 2, n. 2, p. 37- 44, 2009.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, n. 1, p. 36-41, 2008.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-CNPQ, 1998. p. 183-260.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: in practice**. Edington: Exegetics, 1996. 1361 p.

GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture: the technology**. Edington: Exegetics, 1993. p. 574.

MARQUES, D. A.; FRANCO, M. C.; SIQUEIRA, W. J. Organogênese *in vitro* a partir de segmentos de hipocótilo em pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL 5., Varginha. 2008, **Anais...** Varginha: UFLA, 2008. p. 1814-1810.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 1, p. 473-479, 1962.

NIEDEZ, R. P.; BAUSHER, M. G. Control of *in vitro* contamination of explants from greenhouse and field grown trees. **In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant**, New York, v. 38, n. 1, p. 468-471, 2002.

OLIVEIRA, R. P.; SILVEIRA, D. G.; SILVA, S. O. Efeito da desinfestação e do uso de meios indicadores de contaminação na micropropagação de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 57-61, 2000.

PEREIRA, G. A. **Uso do gene xylA – xilose isomerase como agente de seleção na transformação genética de citros**. 2004. 38 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

SOUSA, G. C.; CLEMENTE, P. C.; ISAAC, V. L. R.; FARIA, S. P.; CAMPOS, M. R. C. Contaminação Microbiana na propagação *in vitro* de *Cattleya walkeriana* e *Schomburgkia crispera*. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 1, p. 405-407, 2007. Suplemento.

SUJATHA, M.; MAKAR, H.P.S.; BECKER, K. Shoot bud proliferation from axillary nodes and leaf sections of non-toxic *Jatropha curcas* L. **Plant Growth Regulation**, Netherlands, v. 47, n. 1, p. 83-90, 2005.

6 CRESCIMENTO *IN VITRO* DE GEMAS APICAIS DE PINHÃO MANSO (*Jatropha curcas* L.)

RESUMO

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) é uma planta com potencial econômico para produção de biodiesel. Com isso surge a necessidade de produção de mudas em escala comercial selecionadas de plantas matrizes superiores. Assim, técnicas para a propagação *in vitro* precisam ser desenvolvidas para produzir material para preservação de germoplasma, propagação rápida, melhoramento de plantas, o que poderá aumentar a produção em um curto período. Objetivou-se com este trabalho avaliar o desenvolvimento *in vitro* de gemas apicais de pinhão manso em meio de cultivo com 100% e 50% dos sais e o uso do regulador vegetal BAP, visando à obtenção de gemas desenvolvidas. Foram utilizadas como explantes gemas apicais de pinhão manso. Os tratamentos foram: T1 – Murashige e Skoog (1962) (MS); T2 – MS + 0,1mg L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP); T3 – metade da concentração do meio MS; T4 – metade da concentração do meio MS + 0,1mg L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP). Os explantes foram avaliados 30 dias após a inoculação. Avaliaram-se a porcentagem de gemas desenvolvidas determinadas através da avaliação visual do aparecimento de folhas e gemas laterais e a porcentagem de gemas sobreviventes. Os resultados permitiram concluir que o meio de cultura MS com 100% dos sais e a adição do regulador vegetal BAP 0,1mg L⁻¹ proporcionou as maiores porcentagens de gemas apicais vivas, 95%, e desenvolvidas 65%.

Palavras chave: Biodiesel. Cultura de gemas. Citocinina. Regulador vegetal.

**DEVELOPMENT *IN VITRO* OF APICAL BUDS OF PHYSIC NUT (*Jatropha curcas*
L.)**

ABSTRACT

Physic nut (*Jatropha curcas* L.) is a plant with economic potential for biodiesel production. With this comes the need for seedling production in commercial scale selected mother plants superiors. Thus, techniques for culture *in vitro* need be developed to generate material for germplasm preservation, rapid propagation, plant breeding, which could increase production in a short period. The objective of this study was to evaluate the *in vitro* development of apical buds of physic nut in culture medium with 100% and 50% of the salts and the use of plant growth regulator BAP, aiming to produce buds developed. The explants were evaluated 30 days after inoculation. The treatments were: T1 – Murashige e Skoog (1962) (MS), T2 - MS + 0.1 mg L⁻¹ 6-benzylaminopurine (BAP), T3 – half concentration of the medium MS; T4 - half concentration of the medium MS + 0.1 mg L⁻¹ 6-benzylaminopurine (BAP). We evaluated the percentage of buds developed determined by evaluating the visual appearance of leaves and lateral buds and percentage of buds alive. The results showed that MS medium with 100% of the salts and the addition of the plant growth regulator BAP 0.1 mg L⁻¹ has provided the highest percentage of apical buds alive, 95%, and developed 65%.

Keywords: Biodiesel. Tissue buds. Cytokinin. Growth regulator.

6.1 INTRODUÇÃO

O pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) é uma planta oleaginosa que pertence à família Euphorbiaceae e o seu óleo é indicado como matéria prima para produção de biodiesel. Seu centro de origem provavelmente é a América Tropical, sendo amplamente distribuído em áreas tropicais e subtropicais, tais como: África, Ásia, Brasil, México (OPENSHAW, 2000; SUJATHA et al., 2008).

A cultura do pinhão manso é uma fonte alternativa de cultura energética que está ganhando importância devido o seu teor elevado de óleo (30-40%) nas sementes e a composição lipídica semelhante ao do combustível fóssil, e também por não competir com as fontes de óleo comestível (DEORE; JOHNSON, 2008; JHA et al., 2007). Uma das tecnologias para contribuir com a domesticação da planta é o desenvolvimento de práticas alternativas que visem melhorar sua produção e a obtenção de mudas selecionadas a partir de plantas matrizes superiores. Com isso, a micropropagação é uma alternativa viável para obtenção de plantas livres de patógenos e para a propagação em quantidade elevadas de plantas em um período de tempo curto (SATURNINO et al., 2005).

A micropropagação é uma técnica que tem como principais vantagens o aumento rápido do número de indivíduos e a possibilidade de conservação de germoplasma, garantindo a manutenção da biodiversidade (ECHEVERRIGARAY et al., 2001). Pode ser dividida em três fases: a primeira é a etapa de estabelecimento do cultivo inicial ou primário; a segunda é de multiplicação das brotações e terceira é a do enraizamento (MURASHIGE, 1974). Uma etapa anterior ao isolamento, que compreende a seleção da planta-matriz fornecedora de explantes e pré-tratamentos para promover uma determinada resposta *in vitro* pode ser considerada como mais uma fase deste processo e outra posterior ao enraizamento, denominada aclimatização que compreende a transferência para o meio ambiente (KRIKORIAN, 1991).

Para o crescimento e desenvolvimento da planta *in vitro* utiliza-se meio de cultivo acrescido substâncias que compreendem água, sais inorgânicos, fonte de carbono e energia, vitaminas e fitorreguladores (GUERRA; NODARI, 2006). Estas suprem as necessidades metabólicas, energéticas e estruturais das células (ARAUJO et al., 2005). O crescimento e a morfogênese *in vitro* são fatores regulados pela interação e balanço dos reguladores de crescimento existentes no meio de cultivo, principalmente auxinas e citocininas (GEORGE; SHERRINGTON, 1984).

As citocininas são utilizadas para quebra da dominância apical dos brotos e aumento da taxa de multiplicação. Desse modo, ocorre um grande número de brotações por meio do crescimento de meristemas laterais (SRISKANDARAJAH et al., 1982). Entre as citocininas o BAP (6-benzilaminopurina) tem sido muito eficiente na multiplicação de partes aéreas e indução de gemas adventícias em diversas espécies (HU; WANG, 1983). Para multiplicação em meio de cultivo, em geral, suas concentrações variam de 0,1 a 5 mg L⁻¹ (TOMBOLATO; COSTA, 1998).

Com isso o objetivou-se com este trabalho avaliar o crescimento *in vitro* de gemas apicais de pinhão manso em meio de cultura com 100% e 50% dos sais e o uso do regulador vegetal BAP, visando à obtenção de gemas desenvolvidas.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Micropropagação pertencente Universidade Estadual Paulista - Campus de Ilha Solteira no período de 25 de janeiro a 25 de fevereiro de 2012, localizada a 20°25'28" de latitude sul e 51°21'15" de longitude oeste com altitude média de 354 m.

6.2.1 Obtenção do material vegetal

Foram utilizadas gemas apicais de pinhão manso, retiradas de plantas cultivadas em vasos plásticos com 2 anos de idade, em condições de ambiente. As plantas mantidas em vasos foram propagadas através de estacas, retiradas de plantas matrizes da área experimental localizada na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão, pertencente à Universidade. Essas plantas foram podadas.

As plantas mantidas em vasos com capacidade de 20L receberam os seguintes tratamentos culturais: foram podadas em setembro, adubadas com a 30g por vaso da fórmula 8-28-16, pulverizadas com Casugamicina (Kasumin[®]) na dose de 300mL por 100L de água, e irrigadas, de acordo com as necessidades da cultura.

6.2.2 Assepsia

As gemas apicais foram coletadas, com aproximadamente 3 cm de comprimento, com o auxílio de tesoura, e armazenados em recipientes com água até coletar todo o material. No laboratório as gemas foram lavadas com detergente neutro durante cinco minutos e armazenadas em recipiente com água destilada autoclavada. Após a lavagem as gemas apicais foram seccionadas com bisturi esterilizado permitindo assim a redução de seu tamanho a aproximadamente 2 cm de comprimento e levadas para câmara de fluxo para realizar a inoculação nos tratamentos.

6.2.3 Estabelecimento *in vitro*

Os tratamentos foram baseados em ensaios pilotos (dados não apresentados) para o cultivo *in vitro* de pinhão manso, e com isso foram realizados os seguintes tratamentos: T1 – Murashige e Skoog (1962) (MS) (Tabela 19); T2 – MS + 0,1mg L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP); T3 – 50% de sais do meio MS; T4 – 50% dos sais do meio MS + 0,1mg L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP). Todos os tratamentos foram suplementados com sacarose a 30 g L⁻¹ e o solidificante Phytigel[®] a 2,5 g L⁻¹, com pH ajustado para 5,7±1 antes da autoclavagem (esterilização) a 120°C com 1 Kgf cm⁻¹ durante vinte minutos.

Dentro da câmara de fluxo os explantes passaram pela seguinte assepsia: imersão em etanol 70% por 5 minutos; imersão em solução de cloro ativo 1,25% (v/v) (Qboa[®]), por 3 minutos, com agitação manual; lavagem em água destilada autoclavada por 3 vezes, dentro da câmara de fluxo por aproximadamente 10 minutos. Logo após, os explantes foram inoculados em tubos de ensaio contendo 15mL de meio de cultura com os devidos tratamentos.

A fase de incubação foi realizada em sala de crescimento com temperatura 22 ± 3 °C, sendo mantidas em fotoperíodo de 16 horas de luz a uma intensidade luminosa de 30 μmol m⁻²s⁻¹.

Tabela 19 - Composição dos meios nutritivos MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e metade da concentração dos sais do MS*.

	MS 100% (mg L ⁻¹)	MS 50% (mg L ⁻¹)
Macronutrientes		
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	-	-
NH ₄ NO ₃	1.650,000	825,000
KNO ₃	1.900,000	950,000
CaCl ₂ .2H ₂ O	440,00	220,000
MgSO ₄ .7H ₂ O	370,00	185,000
KH ₂ PO ₄	170,00	85,000
K ₂ SO ₄	-	-
Micronutrientes		
MnSO ₄ .4H ₂ O	22,300	11,150
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,600	4,300
H ₃ BO ₃	6,200	3,100
KI	0,830	0,415
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,250	0,125
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025	0,012
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025	0,012
Ferro-EDTA		
Na ₂ EDTA	37,250	18,620
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,850	13,925
Vitaminas		
Tiamina – HCl	0,100	0,050
Piridoxina – HCl	0,500	0,250
Ac. Nicotínico	0,500	0,250
Glicina	2,000	1,000

* Dados adaptados de Xavier et al. (2007).

6.2.4 Variáveis avaliadas

Os explantes foram avaliados após 30 dias, contados da data de inoculação, período esse que compreende a fase de estabelecimento da cultura. As variáveis avaliadas foram: porcentagem de gemas de pinhão manso sobreviventes e porcentagem de gemas apicais crescidas determinadas através da avaliação visual do aparecimento de folhas e gemas laterais.

6.2.5 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro tratamentos, cinco repetições, sendo que cada repetição foi representada por cinco tubos contendo um explante cada. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ao nível 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2008).

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância (Tabela 20), pode-se observar que houve diferença significativa entre os tratamentos para a variável porcentagem de explantes sobreviventes ($p < 0,01$). Não houve resultado significativo para a variável porcentagem de gemas crescidas.

Tabela 20 - Quadrados médios da análise de variância e níveis de significância referentes à porcentagem de explantes vivos e porcentagem de gemas desenvolvidas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Ilha Solteira - SP, 2012.

Causa de Variação	Quadrados Médios	
	Explantes Sobreviventes (%)	Gemas Crescidas (%)
Tratamentos	0,64 ^{**}	0,08 ^{ns}
C.V. (%)	31	58,12

** ($p < 0,01$); ^{ns} (Não significativo), C.V.= (coeficiente de variação)

Fonte: Dados de pesquisa da autora.

A variável porcentagem de explantes sobreviventes nos tratamentos MS, MS + 0,1mg L⁻¹ de BAP e ½ MS não obtiveram diferenças significativas, com 95%, 95% e 65% de explantes sobreviventes, diferindo estatisticamente do tratamento ½ MS + 0,1mg L⁻¹ de BAP que proporcionou apenas 10% de explantes vivos (Tabela 21).

De acordo com Vianna et al. (2010) o índice de sobrevivência das gemas apicais de pinhão manso foi de 100% no meio contendo 0,1; 0,2; 0,4 mg L⁻¹ de BAP, e de 90% nos demais. Entre os sobreviventes, cresceram 100% os explantes que estavam nas concentrações 0,1 e 0,2 mg L⁻¹, 90% na concentração 0,4 mg L⁻¹ e 70% na concentração de 0,8 e 0,0 mg L⁻¹. As gemas que estavam nos meios 0,1 e 0,2 mg L⁻¹, tiveram um crescimento mais acentuado, com o desenvolvimento de folhas e em alguns a formação de calos, no entanto sem a formação de raízes, sendo a melhor concentração de 0,1 mg L⁻¹ de BAP, onde não houve desenvolvimento de brotações.

Tabela 21 - Porcentagem de gemas sobreviventes e gemas crescidas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Ilha Solteira – SP, 2012.

Tratamentos	Gemas Sobreviventes (%)	Gemas Crescidas (%)
MS	95a	40a
MS + 0,1mg L ⁻¹ BAP	95a	75a
½ MS	65a	60a
½ MS + 0,1mg L ⁻¹ BAP	10b	55a

Médias seguidas de letras distintas minúscula na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Dados de pesquisa da autora.

Com relação à porcentagem de gemas desenvolvidas, não houve diferença estatísticas entre os tratamentos (Tabela 21), e a maior porcentagem de gemas de pinhão manso desenvolvidas ocorreu com MS + 0,1mg L⁻¹ BAP (Figura 7.)

Figura 7 - Gema apical de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) em crescimento em meio de cultura MS + 0,1mg L⁻¹ BAP. Ilha Solteira – SP, 2012.



Fonte: Elaboração da própria autora.

Estudos realizados por Suzuki (2012) com concentrações de sais dos meios de culturas MS e WPM no estabelecimento *in vitro* de folhas de pinhão manso não tiveram diferença estatística entre os tratamentos estudados, no entanto, o meio MS foi o mais recomendado, por ter proporcionado maior porcentagem de calos crescidos. Assim como, Oliveira et al. (2000), testou, em meio MS, a diferenciação de meristemas apicais de diferentes variedades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e obtiveram como resultados fora níveis satisfatórios no estabelecimento e multiplicação dos explantes.

Paiva et al. (1997) que obtiveram um bom desenvolvimento *in vitro* de gloxínia quando utilizaram 50% dos sais do meio MS. No entanto, Gunver et al. (1998) observaram desenvolvimento de brotações de figos, onde meristemas retirados de plantas adultas foram cultivados em meio MS contendo 1 mg L⁻¹ de BAP e 1 mg L⁻¹ de ANA.

Os meios de cultivo utilizados nos estágios de estabelecimento da cultura e multiplicação são similares, pois ambos possuem em suas formulações macronutrientes, micronutrientes, carboidratos, geralmente a sacarose, e alguns compostos orgânicos como vitaminas e aminoácidos, e a possibilidade de reduzir a concentração de sais do meio de cultura para promover o desenvolvimento, enraizamento e até mesmo a redução de custos, tem sido relatada por diversos autores (BRUM, 2001; GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

6.4 CONCLUSÕES

O meio de cultivo MS com 100% dos sais e a adição do regulador vegetal BAP a $0,1\text{mg L}^{-1}$ proporcionou as maiores porcentagens de gemas apicais sobreviventes e desenvolvidas.

REFERÊNCIAS

- ARAUJO, J. S.; PASQUAL, M.; DUTRA, L. F.; LUZ, J. M. Q.; PEREIRA, A. R.; FERREIRA, A. L.; MYIADA, L. Y. Influência de cinetina e ácido indolbutírico na indução de calos em anteras de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 1, n. 2, p. 66-71. 2005.
- BRUM, G. R. **Micropropagação de figueira (*Ficus carica* L.)**. 2001. 41 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)- Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.
- DEORE, A. C.; JOHNSON, S. High-frequency plant regeneration from leaf-disc culture of *Jatropha curcas* L.: an important biodiesel plant. **Plant Biotechnology Reports**, Tóquio, v. 2, n. 1, p. 7-11, 2008.
- ECHVERRIGARAY, S.; ANDRADE, L. B.; DELAMARE, A. P. L.; ZENI, A. L. B.; CARRER, R. Cultura de tecidos e micropropagação de plantas aromáticas e medicinais. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Biotecnologia na Agricultura e na Agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p. 257-276.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, n. 1, p. 36-41, 2008.
- GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant propagation by tissue culture**. Eversley: Exegetics limites, 1984. 593 p.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Culturas de tecidos e transformações genéticas de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/ Embrapa-CNPq, 1998. v. 1, p. 183-260.
- GUERRA, M. P.; NODARI R. O. **Introdução ao conceito de biotecnologia**. Florianópolis: CCA/UFSC., 2006. p. 40.
- GUNVER, G.; ERTAN, E.; AKSOY, U.; FERGUSON, L.; HEPAKSOY, S. A study on the propagation of figs by the tissue culture techniques. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 2, n. 480, p. 169-172, 1998.

HU, C. Y.; WANG, P. J. Meristem, shoot tip and bud culture. In: EVANS, D. A.; SHARP, W. R.; AMMIRATO, P. V.; YAMADA, Y. (Ed.). **Handbook of plant cell culture**. New York: MacMillan, 1983. p. 117-227.

JHA, T. B.; MUKHERJEE, P.; DATTA, M. M. Somatic embryogenesis in *Jatropha curcas* Linn., an important biofuel plant. **Plant Biotechnology Reports**, New York, v. 1, n. 3, p. 135-140, 2007.

KRIKORIAN, A. D. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. In: ROCA, W. M.; MROGINSKI, L. A. (Ed.). **Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos e aplicaciones**. [S.l.: s.n.], 1991. p. 41-77.

MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue cultures. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 25, n. 1, p. 1335-166, 1974.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 1, p. 473-479, 1962.

OLIVEIRA, R. P. de; GOMES, T. da S.; VILARINHOS, A. D. Avaliação de um sistema de micropropagação massal de variedades de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 12, p. 2329-2334, 2000.

PAIVA, P. D. O.; MAYER, M. B. D.; CAMPOS, R. J. C.; RODRIGUES, V. A.; PASQUAL, M. Propagação *in vitro* de gloxínia. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 3, n. 2, p. 29-41, 1997.

SATURNINO, H. M.; PACHECO, D. D.; KAKIDA, J. ; TOMINAGA N.; GONÇALVES, N. P. Cultura do Pinhão Manso (*Jatropha curcas* L.). **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p. 44-78, 2005.

SRISKANDARAJAH, S.; MULLINS, M. G.; NAIR, Y. Induction of adventitious rooting *in vitro* in difficult to propagate cultivars of apple. **Plant Science Letters**, Limerick, v. 24, n. 1, p. 1-9, 1982.

SUJATHA, M.; REDDY, T. P.; MAHASI, M. J. Role of biotechnological interventions in the improvement of castor (*Ricinus communis* L.) and *Jatropha curcas* L. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 26, n. 6. p. 424-435, 2008.

SUZUKI, A. N. **Protocolo para estabelecimento *in vitro* de *Jatropha curcas* L. através de explantes foliares**. 2012, 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)- Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2012.

TOMBOLATO, A. F. C; COSTA, A. M. M. **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1998. p. 15-17. (Boletim Técnico, 174).

VIANNA, V. F.; VEDOVATO, N. F.; TREVISOLI, S. H. U.; BIZARI, E. DI MAURO, A. O. Estabelecimento de gemas apicais de pinhão manso em meio de cultura contendo BAP (6-benzilaminopurina). In: SEMANA DE TECNOLOGIA DO CURSO DE BIOCOMBUSTÍVEIS DA FACULDADE DE TECNOLOGIA DE JABOTICABAL 3., 2010, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FATEC-JB, 2010. p. 1-2.

XAVIER, A.; OTONI, W. C.; PENCHEL, R. M. Micropropagação e enxertia *in vitro* de espécies florestais. In: BORÉM, A. **Biotecnologia florestal**. Viçosa, MG: UFV, 2007. p. 57–74.

7 ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DE GEMAS APICAIS DE PINHÃO MANSO (*Jatropha curcas* L.)

RESUMO

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie que pertence à família Euphorbiaceae e possui elevado potencial para produção de biodiesel. No entanto, ainda existem poucas informações e estudos a respeito da espécie, inclusive quanto ao seu potencial de propagação *in vitro*. Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito do ácido indol butírico (AIB) no enraizamento *in vitro* do pinhão manso. O experimento foi composto pelos seguintes tratamentos: T1 – Murashige e Skoog (1962) (MS) + 0,25mg L⁻¹ de AIB; T2 – MS + 0,50mg L⁻¹ de AIB; T3 – MS + 1,0mg L⁻¹ de AIB; T4 - ½ MS + 0,25mg L⁻¹ de AIB; T5 - ½ MS 0,50mg L⁻¹ de AIB; T6 - ½ MS + 1,0mg L⁻¹ de AIB. As variáveis avaliadas foram: porcentagens de explantes enraizados, número médio de raízes e porcentagem de formação de calos. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Os resultados permitiram concluir que: o meio de cultura MS com 50% dos sais e a adição de 0,50mg L⁻¹ AIB proporcionou 40% de enraizamento; o maior número médio de raízes ocorreu com o tratamento com MS com 50% dos sais com adição de 0,5mg L⁻¹ AIB, e a formação de calo ocorreu com maior porcentagem, 28%, no tratamento MS + 1,0mg L⁻¹ AIB.

Palavras chave: Biodiesel. Cultura de tecido. Regulador vegetal. Auxina.

ROOTING *IN VITRO* OF APICAL BUDS PHYSIC NUT (*Jatropha curcas* L.)**ABSTRACT**

Physic nut (*Jatropha curcas* L.) is a species belonging to the family Euphorbiaceae and has high potential for biodiesel production. However, there are few studies and information about the type, including the potential for *in vitro* propagation. Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of indole butyric acid (IBA) *in vitro* rooting of Physic nut. The experiment consisted of the following treatments: T1 – Murashige e Skoog (1962) (MS) + 0.25 mg L⁻¹ IBA, T2 - MS + 0.50 mg L⁻¹ IBA, T3 - MS + 1.0 mg L⁻¹ IBA, T4 - ½ MS + 0.25 mg L⁻¹ IBA; T5 - ½ MS 0.50 mg L⁻¹ IBA; T6 - ½ MS + 1.0 mg L⁻¹ IBA. The variables evaluated were: percentage of rooted explants, mean number of roots and percentage of callus formation. Data were subjected to analysis of variance and means were compared by Tukey test at 5% probability. The results showed that: the MS medium with 50% of the salts and the addition of 0.50 mg L⁻¹ IBA provided 40% of rooting, the highest mean number of roots occurred after treatment with 50% of MS salts with addition of 0.5mg L⁻¹ IBA, and callus formation occurred with the highest percentage, 28%, in the treatment MS + 1.0 mg L⁻¹ IBA.

Key words: Biodiesel. Tissue culture. Plant regulator. Auxin.

7.1 INTRODUÇÃO

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), uma oleaginosa pertencente à família Euphorbiaceae, e é uma alternativa promissora na produção de óleo para produção de biodiesel (ARRUDA et al., 2004).

Para a produção de mudas de pinhão manso o método mais recomendado é a propagação via semente (PAULINO et al., 2011), o que dificulta a uniformidade de plantios devido a variabilidade genética. Uma alternativa para minimizar tais problemas, é a clonagem de genótipos elite, que pode ser realizada utilizando a técnica da micropropagação (NOGUEIRA et al., 2011).

Na cultura do pinhão manso a micropropagação está sendo realizada para desenvolver um sistema de produção rápida e eficiente, devido estudos anteriores terem mostrado que as plantas de *J. curcas* produzidas *in vitro* têm melhor rendimento e produtividade, comparadas com plantas propagadas por sementes (SUJATHA et al., 2005).

No Brasil, a micropropagação vem sendo muito utilizada, permitindo um acesso mais rápido dos agricultores à mudas de melhor qualidade, especialmente das variedades tradicionais como banana, abacaxi, orquídeas, entre outras, e as desenvolvidas pelos programas de melhoramento genético. A técnica envolve o desenvolvimento *in vitro* de brotos a partir de gemas (ápices caulinares ou florais), nos quais é induzida a formação de novas gemas, em condições controladas de cultivo (ALVES et al., 2005).

Algumas espécies de plantas têm dificuldade na formação de raízes adventícias, e para iniciar o processo necessitam do uso de reguladores vegetais (SYROS et al., 2004).

Um grupo importante de reguladores vegetais é o das auxinas, que devido a sua capacidade de atuar na divisão celular e expansão, é essencial para o desenvolvimento de tecidos vasculares e de raízes, indução de embriões somáticos e por promove o crescimento de calos, bem como de meristemas e brotos (KUHLEMEIER; REINHARDT, 2001; LEYSER, 2003).

De acordo com Fachinello et al. (2005) o papel das auxinas na indução e no desenvolvimento de raízes tem sido bastante pesquisado, sendo que o ácido indolbutírico (IBA) é o mais utilizado, por possibilitar boa capacidade de enraizamento e ser menos sensível à degradação biológica, em comparação às demais auxinas sintéticas. No entanto, níveis elevados de auxinas podem ter efeito inibitório sobre o processo de enraizamento (NOGUEIRA et al., 2011).

Todavia os explantes, na maioria das vezes não iniciam o processo de enraizamento em meios com concentrações altas de sais, apesar das auxinas presentes. Altas concentrações de sais tendem a inibir todas as fases do enraizamento, particularmente o crescimento de raízes (HU; WANG, 1983).

Estudos realizados por Datta et al. (2007) com enraizamento *in vitro* de plantas de *J. curcas* inoculadas no meio MS permitiram concluir que a concentração de 1,0 μM de AIB proporcionou 52% de enraizamento, e concentrações entre 2,5 e 10 μM de AIB não formaram raízes.

Com isso objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de concentrações de sais e do ácido indolbutírico no enraizamento *in vitro* do pinhão manso.

7.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Micropropagação pertencente Universidade Estadual Paulista - Campus de Ilha Solteira, localizada a 20°25'28" de latitude sul e 51°21'15" de longitude oeste com altitude média de 354 m, no período de 21 de agosto a 21 de setembro de 2012.

7.2.1 Obtenção do material vegetal

Foram utilizadas gemas apicais de pinhão manso, retiradas de plantas cultivadas em vasos com 2 anos de idade, em condições de ambiente. As plantas mantidas em vasos de plásticos foram propagadas através de estacas, retiradas de plantas matrizes da área experimental localizada na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão, pertencente à Universidade. Essas plantas foram podadas.

As plantas mantidas em vasos com capacidade de 20L receberam os seguintes tratamentos culturais: foram podadas em setembro, adubadas com a 30g por vaso da fórmula 8-28-16, pulverizadas com Casugamicina (Kasumin[®]) na dose de 300mL por 100L de água, e irrigadas, de acordo com as necessidades da cultura.

7.2.2 Assepsia

As gemas apicais foram coletadas, com aproximadamente 3 cm de comprimento, com o auxílio de tesoura, e armazenados em recipientes com água até coletar todo o material. No laboratório as gemas foram mantidas em recipiente com água corrente e lavadas com detergente neutro durante cinco minutos. Após a lavagem as gemas apicais foram seccionadas com bisturi esterilizado permitindo assim a redução de seu tamanho a aproximadamente 2 cm de comprimento e levadas para câmara de fluxo para realizar os tratamentos.

Todos os explantes passaram pela seguinte assepsia: imersão em etanol 70% por 5 minutos; imersão em cloro ativo 2,5% (Qboa[®]), por 5 minutos, com agitação; lavagem em água destilada por 3 vezes, dentro da câmara de fluxo por aproximadamente 10 minutos. As gemas apicais foram inoculadas em tubos de ensaio com 15 mL de meio de cultivo com seus respectivos tratamentos.

7.2.3 Ensaio utilizados

Os tratamentos utilizados foram: T1 – Murashige e Skoog (1962) MS + 0,25mg L⁻¹ de ácido indol butírico (AIB); T2 - MS + 0,50mg L⁻¹ de AIB; T3 - MS + 1,0mg L⁻¹ AIB; T4 - ½ MS + 0,25mg L⁻¹ AIB; T5 - ½ MS 0,50mg L⁻¹ AIB; T6 - ½ MS + 1,0mg L⁻¹ AIB. O meio de cultivo foi suplementado com sacarose a 30 g L⁻¹ e o solidificante Phytigel[®] a 2,5 g L⁻¹, com pH ajustado para 5,7±1 antes da autoclavagem (esterilização) a 120°C com 1 Kg cm⁻¹ durante vinte minutos. A fase de estabelecimento foi realizada em sala de crescimento com temperatura 22 ± 3 °C, sendo mantidas em fotoperíodo de 16 horas de luz a uma intensidade luminosa de 30 μmol m⁻²s⁻¹.

7.2.4 Variáveis avaliadas

Os explantes foram avaliados 30 dia após, contados da data de inoculação, período esse que compreende a fase de estabelecimento da cultura. As variáveis avaliadas foram: porcentagens de explantes enraizados, número médio de raízes e porcentagem de formação de calos.

7.2.5 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com seis tratamentos, cinco repetições, sendo que cada repetição foi representada por quatro tubos contendo um explante cada. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SISVAR (FERREITA, 2008).

7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se verificar na Tabela 22 que houve diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis: porcentagem de enraizamento, número médio de raízes e porcentagem de calo ($p < 0,01$).

Tabela 22 - Quadrados médios da análise de variância e níveis de significância referentes à porcentagem de explantes enraizados, número médio de raízes e porcentagem de calos em explantes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Ilha Solteira - SP, 2012.

Causa de Variação	Quadrado Médio		
	Enraizamento (%)	Número médio raízes	Calo (%)
Tratamentos	1589,33**	25,41**	525,33**
C.V. (%)	75,65	98,04	122,84

** ($p < 0,01$); ^{ns} (Não significativo), C.V.= (coeficiente de variação)

Fonte: Dados de pesquisa da autora.

Dentre os tratamentos testados (Tabela 23), o maior percentual de enraizamento (40%) foi obtido com o uso de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de AIB em $\frac{1}{2}$ MS, não diferindo estatisticamente dos tratamentos $\frac{1}{2}$ MS + $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ AIB (32%) e $\frac{1}{2}$ MS + $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ AIB (32%). Estes resultados estão abaixo dos encontrados por Kaewpoo e Techato (2009) que relataram que a taxa de enraizamento de *J. curcas* foi de 60% após 30-40 dias em meio MS suplementado com $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de IBA. Já Kumar e Reddy (2012) pesquisando regeneração de hipocótilos de pinhão manso mostraram que o melhor enraizamento (37,06%) foi observado com $\frac{1}{2}$ MS suplementado com $5 \mu\text{M}$ de AIB + $5,7 \mu\text{M}$ de AIA + $11 \mu\text{M}$ de ANA.

Tabela 23 - Porcentagem de explantes enraizados, número médio de raízes e porcentagem de calos em explantes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Ilha Solteira – SP, 2012.

Tratamentos	Enraizamento (%)	Número médio raízes	Calo (%)
MS + 0,25mg L ⁻¹ de AIB	0 b	0 b	4,0 b
MS + 0,50mg L ⁻¹ AIB	4 b	1,0 ab	4,0 b
MS + 1,0mg L ⁻¹ AIB	4 b	0,2 b	4,0 b
½MS + 0,25mg L ⁻¹ AIB	32 a	4,8 a	12 ab
½ MS 0,50mg L ⁻¹ AIB	40 a	3,0 ab	0 b
½ MS + 1,0mg L ⁻¹ AIB	32 a	5,0 a	28 a

Médias seguidas de letras distintas minúscula na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

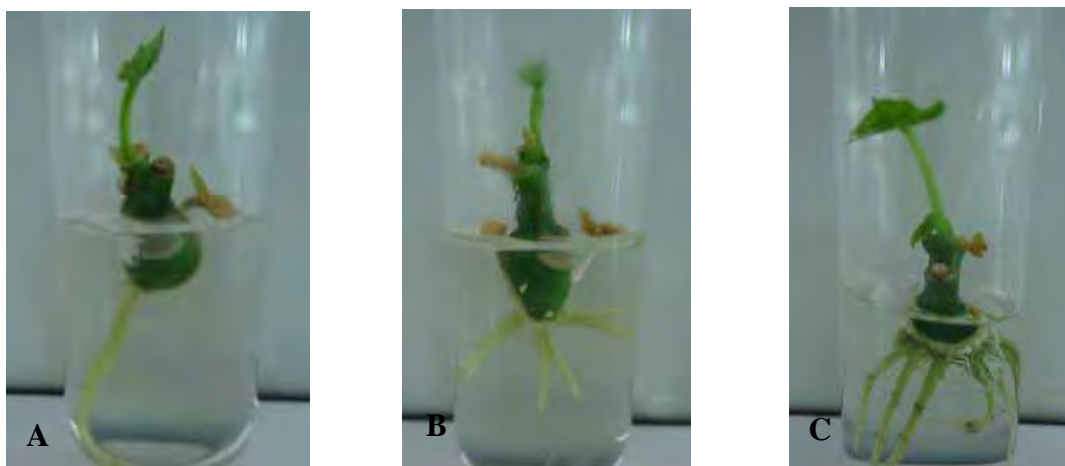
Fonte: Dados de pesquisa da autora.

Pesquisas realizadas por Datta et al. (2007), com plantas de *J. curcas* submetidas ao enraizamento em meio MS com concentrações de 1,0 µM de AIB proporcionou 52% de enraizamento, e concentrações entre 2,5 e 10 µM de AIB não formaram raízes. Por outro lado Rajore e Batra (2005) cultivaram brotos de *J. curcas* L. em meio MS + 8,87µM de BAP e 2,85µM de AIA, juntamente com sulfato de adenina, glutamina e carvão ativado. As brotações foram enraizadas em ½ MS + concentrações de 2,46 a 24,60 µM de AIB. A alta frequência de enraizamento ocorreu em ½ MS suplementado com 14,70 µM de AIB. Já Oliveira et al. (2011) observaram maior porcentagem de enraizamento (80%) em meio MS sem regulador vegetal e maior número de raízes (1,75) em brotações de *Croton antisiphiliticus* a 1µM de AIB,

De acordo com Grattapaglia e Machado (1990) o uso de altas concentrações de sais inibem as fases de enraizamento, sendo, recomendado meio de cultivo 100% concentrado para a indução de enraizamento e para o alongamento das raízes o meio de cultura diluído.

Para o número médio de raízes, o tratamento com ½ MS + 1,0mg L⁻¹ AIB teve maior média (5,0), não diferindo estatisticamente dos tratamentos com ½ MS + 0,25mg L⁻¹ AIB (4,8), ½ MS 0,50mg L⁻¹ AIB (3,0) e MS + 0,50mg L⁻¹ AIB (1,0) (Figura 8). Resultados semelhantes foram encontrados por Datta et al. (2007) que obtiveram com propagação de pinhão manso *in vitro* utilizando o meio MS com adição de 1,0 µM de AIB maior número de raízes (5,6). Segundo Kochhar et al (2005) o regulador vegetal IBA é eficaz no enraizamento de *J. curcas*. Outros estudos confirmam a capacidade de indução de raízes com IBA embora em diferentes concentrações e com eficiências diferentes.

Figura 8 - Explantes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) em meio de cultivo $\frac{1}{2}$ MS + 0,25mg L⁻¹ AIB (A) $\frac{1}{2}$ MS 0,50mg L⁻¹ AIB (B), e $\frac{1}{2}$ MS + 1,0mg L⁻¹ AIB, com enraizamento. Ilha Solteira – SP, 2012.



Fonte: Elaboração da própria autora.

Trabalhos realizados com outras espécies corroboram com os resultados do presente trabalho: Barbosa et al. (2008) verificaram que aos 50 dias o maior número médio de raízes de figo cultivar “Roxo de Valinhos” foi de 3,5 quando submetido a 5 mg L⁻¹ de IBA da mesma forma que Pereira (2012) obteve com a concentração de 4 mg L⁻¹ AIB média de 3,2 raízes por broto de bananeira ‘Thap Maeo’. Segundo Gunes (2000) a indução de enraizamento por auxinas é comumente utilizada para regenerar plantas viáveis a partir de brotos e estacas.

Para a porcentagem de calos o tratamento $\frac{1}{2}$ MS + 1,0mg L⁻¹ AIB proporcionou maior porcentagem de calos (28%), não diferindo do tratamento $\frac{1}{2}$ MS + 0,25mg L⁻¹ AIB (12%). O calo foi formado na base do explante.

O calo corresponde a uma massa de células desorganizadas e parcialmente indiferenciadas que variam quanto ao tipo, tamanho, conteúdo celular e espessura da parede (FLORES et al, 1998). É um tecido amorfo e desorganizado, formado pela intensa atividade de células vegetais (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

A formação de calo na base do explante ocorre devido o excesso de auxinas, e essa formação compromete a formação das raízes e o crescimento da parte aérea. Uma toxidez de auxina durante o enraizamento pode manifestar-se apenas na fase de alongamento das raízes. Por esta razão, recomenda-se a utilização de dois meios de cultivo para o enraizamento. Primeiramente, as partes aéreas permanecem em meio com auxina, favorecendo a indução e posteriormente passaria para meio sem auxina, estimulando assim a rizogênese e o crescimento das raízes. Este processo é recomendado para espécies lenhosas, coníferas e frutíferas (FETT NETO et al., 1992).

7.4 CONCLUSÕES

É possível enraizar o pinhão manso *in vitro*.

O uso do meio de cultivo MS com 50% dos sais e a adição de 0,50mg L⁻¹ AIB proporcionou maior porcentagem de enraizamento, número médio de raízes, e não formou calo.

REFERÊNCIAS

- ALVES, H. J.; LIMA, M. B.; TRINDADE, A. V. **Mudas micropropagadas**. 2005. Brasília: Agência de informação Embrapa. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia40/AG01/arvore/AG01_8_41020068054.htm>. Acesso em: 23 ago. 2012.
- ARRUDA, F. P.; BELTRÃO, N. E. M.; ANDRADE, A. P.; PEREIRA, W. E.; SEVERINO, L. S. Cultivo do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa ao semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 789-799, 2004.
- BARBOSA, W.; PIO, R.; VEIGA, R. F. A.; CHAGAS, E. A.; FELDBERG, N. P.; AMPAGNOLO, M. A.; DALASTRA, I. M. Efeito de concentrações do AIB no enraizamento *in vitro* de cultivares de figueira. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 24, n. 2, p. 1-6, 2008.
- DATTA, M. M.; MUKHERJEE, P.; GHOSH, B.; JHA, T. B. *In vitro* clonal propagation of biodiesel plant (*Jatropha curcas* L.). **Current Science**, Bangalore, v. 93, n. 10, p. 1438-1442, 2007.
- FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. (Ed.). **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221 p.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, n. 1, p. 36-41, 2008.
- FETT-NETO, A. G.; TEIXEIRA, S. L.; SILVA, E. A. M.; SANTNNA, R. Biochemical and morphological changes during *in vitro* rhizogenesis in cuttings of *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 140, n. 6, p. 720-728, 1992.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Eds.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/Embrapa-CNPH, 1990. p. 99-169.
- GUNES, T. Peroxidase and IAA oxidase activities during rooting of poplar species. **Turkish Journal of Botany**, Turkey, v. 24, n. 2, p. 97-101, 2000.

HU, C. Y.; WANG, P. J. Meristem, shoot tip and bud culture. In: EVANS, D. A.; SHARP, W. R.; AMMIRATO, P. V.; YAMADA, Y. (Eds.). **Handbook of plant cell cultures**. New York: Macmillan, 1983. v.1, p. 177-227,

KAEWPOO, M.; TE-CHATO, S. Influence of explants types and plant growth regulators on multiple shoot formation from *Jatropha curcas*. **Science Asia**, Thailand, v. 35, n. 1, p. 353-357, 2009.

KOCHHAR, S.; SINGH, S. P.; KOCHHAR, V. K. Effect of auxins and associated biochemical changes during clonal propagation of the biofuel plant *Jatropha curcas*. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 32, n. 12, p. 1136-1143, 2005.

KUHLEMEIER, C.; REINHARDT, D. Auxin and phyllotaxis, **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 6, n. 5, p. 187- 189, 2001.

KUMAR, N.; REDDY, M. P. Thidiazuron (TDZ) induced plant regeneration from cotyledonary petiole explants of elite genotypes of *Jatropha curcas*: a candidate biodiesel plant. **Industrial Crops and Products**, Netherlands, v. 39, n. 1, p. 62-68, 2012.

LEYSER, O. Regulation of shoot branching by auxin. **Trends in Plant Science**, London, v. 8, n. 1, p. 541-545, 2003.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 1, p. 473-479, 1962.

NOGUEIRA, A. R. C.; SOARES, A. A.; IBRAHIM, A. B.; CAMPOS, F. A. P. Analysis of organogenic competence of Cotyledons of *Jatropha curcas* and their *in vitro* histological behavior. **African Journal of Biotechnology**, Nigéria, v. 10, n. 54, p. 11249-11258, 2011.

OLIVEIRA, T. G.; PINA, P. S. S.; BERTONI, B. W. Micropropagação de *Croton antispyhiliticus* Mart. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 10, p. 1712-1718, 2011.

PAULINO, J.; FOLEGATTI, M. V.; FLUMIGNAN, D. L.; ZOLIN, C. A.; BARBOZA JUNIOR, C. R. A.; PIEDADE, S. M. S. Crescimento e qualidade de mudas de pinhão manso produzidas em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 1, p. 37-46, 2011.

PEREIRA, G. A. **Protocolo para micropropagação de bananeira ‘Thap Maeo’**. 2012. 121 f. Tese (Doutorado em Sistema de Produção) - Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista,, Ilha Solteira, 2012.

RAJORE, S.; BATRA, A. Efficient plant regeneration via shoot tip explant *in Jatropha curcas*. **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**, New York, v. 14, n. 1, p. 73-75, 2005.

SUJATHA, M.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Shoot bud proliferation from axillary nodes and leaf sections of non-toxic *J. curcas* L. **Plant Growth Regulation**, Netherlands, v. 47, n. 1, p. 83-90, 2005.

SYROS, T.; YUPSANIS, T.; ZAFIRIADIS, H.; ECONOMOU, A. Activity and isoforms of peroxidases, lignin and anatomy, during adventitious rooting in cuttings of *Ebenus cretica* L. **Journal of Plant Physiology**, Germany, v. 161, n. 1, p. 69–77, 2004.

TOPPO, D. D.; SINGH, G.; PURSHOTTAM, D. K.; MISRA, P. Improved in vitro rooting and acclimatization of *Jatropha curcas* plantlets. **Biomass & Bioenergy**, Oxford, v. 44, n. 1, p. 42-46, 2012.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Para a propagação via sementes a escarificação mecânica + a imersão em água por 12 horas com substrato vermiculita proporcionou maior germinação e crescimento das plântulas; já o uso do substrato comercial proporcionou maior desenvolvimento radicular;
- Na propagação vegetativa a estaca basal e o substrato comercial quando propagadas em agosto proporcionou maior crescimento das mudas, em relação ao mês de março.
- Na desinfestação *in vitro* o cloro ativo foi eficiente no controle de fungos, sendo recomendado a concentração de 2,5% durante 2,5 minutos, porém recomenda-se fazer novos ensaios a fim de controlar a contaminação por bactérias, com testes de concentrações e tempos maiores de imersão.
- Com relação ao estabelecimento, o meio de cultura MS com 100% de sais combinado com $0,1\text{mg L}^{-1}$ BAP proporcionou maior porcentagem de gemas apicais de pinhão manso desenvolvidas e vivas.
- O regulador vegetal AIB associado ao meios MS com 50% dos sais é recomendado para o enraizamento *in vitro*.