# MARIA ROSELI NICOLI SPERA

# PROPAGAÇÃO IN VITRO DE Jatropha podagrica HOOK

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Pós-Graduação em Agronomia área de concentração Fitotecnia, para obtenção do grau de MESTRE.

Orientador: Prof. Moacir Pasqual

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRA LAVRAS / MG 1995

# FICHA CATALOGRÁFICA PREPARADA PELA SEÇÃO DE CATALOGAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFLA

Spera, Maria Roseli Nicoli
Propagação in vitro de <u>Jatropha podagrica</u> Hook/
Maria Roseli Nicoli Spera. -- Lavras: UFLA, 1995.
78p.: il.

Orientador: Moacir Pasqual. Dissertação (Mestrado) - UFLA. Bibliografia.

1. Jatropha podagrica - Propagação in vitro. 2. Regulador de elescimento. 3. Planta ornamental.I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-635.9323

# MARIA ROSELI NICOLI SPERA

38961

# PROPAGAÇÃO IN VITRO DE Jatropha podagrica HOOK

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Pós-Graduação em Agronomia área de concentração Fitotecnia, para obtenção do grau de MESTRE.

APROVADA em 15 de agosto de 1995

Prof. Dr. Amauri Alves Alvarenga

Prof. Dr. José Darlan Ramos

Prof. Dr. Moacir Pasqual ORIENTADOR

À meu esposo;

Silvio Tulio Spera

**OFEREÇO** 

Aos meus pais, Belmir e Alzira A minha irmã, Marilsa A meu irmão, José Valdez Ao meu sogro(a), Mauro e Ceres Aos meus cunhados (as), Fabio, Rui Cesar, Fernando, Cássio, Loraine, Sônia, Regina e Patricia As minas sobrinhas, Greicy, Ana Clara e Bruna Camila

**DEDICO** 

#### **AGRADECIMENTOS**

A meu esposo Silvio Tulio pela ajuda e carinho dedicado durante o curso;

A Prof. Dr. Moacir Pasqual (UFLA, Lavras - MG), pela amizade e orientação;

A colega de curso Elizabete Domingues Salvador pela grande amizade;

Aos laboratoristas Evaldo de Souza Arantes e Vantuil Antônio Rodrigues (UFLA-LCT, Lavras - MG) pela amizade, atenção e ajuda concedida:

A Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL) hoje Universidade Federal de Lavras (UFLA), através de seus Departamentos, especialmente ao Departamento de Agricultura (DAG) e ao Laboratório de Biotecnologia pelos conhecimentos adquiridos.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos;

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

#### **BIOGRAFIA DA AUTORA**

MARIA ROSELI NICOLI SPERA, filha de Belmir Nicoli e Alzira Rutili Nicoli, nascida em Santo Augusto, Rio Grande do Sul, a 15 de julho de 1966.

Concluiu o curso superior na Universidade Federal de Santa Maria, RS, em março de 1992, recebendo o título de Engenheiro Agronômo.

Em fevereiro de 1993, iniciou o curso de Pós-Graduação em Agronomia área de concentração fitotecnia à nivel de Mestrado, na Universidade Federal de Lavras - MG.

# SUMÁRIO

|   | Página                     |
|---|----------------------------|
| LISTA DE TABELAS  | vii                        |
| LISTA DE FIGURAS  | viii                       |
|   | VIII                       |
| LISTA DE ABREVIATURAS   | x                          |
| RESUMO  | хi                         |
| SUMMARY   | xiii                       |
| 1. INTRODUÇÃO   | _                          |
|   | 1                          |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA 2.1. Jatropha padagrica como planta organization  2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA   | 3                          |
|   | 3                          |
| 2.2. Jatropha como planta medicinal 2.3. Jatropha como planta produtora de óleo 2.4. Propagação in vitro  | 3                          |
| 2.4. Propagação in vitro  | 5<br>7                     |
| 3. CONSIDERAÇÕES GERAIS.  4. EXPERIMENTO I (Efeito de diferentes concentrações de corrigo atimada a CA a la l              | 17<br>17<br>17<br>18<br>28 |
| 5. EXPERIMENTO II (Influência da sacarose sobre a germinação de embriões de Jatropha podagrica Hook in vitro)   | 29<br>29                   |
|   | 30                         |
|   | 32                         |
| 5. EXPERIMENTO III (Efeito de diferentes concentrações de cinetina e 2,4D sobre raízes, folhas e caules de <i>Jatropha podagrica</i> Hook <i>in vitro</i> ) | 33                         |
| 5.2. Resultados e discussão   | 33<br>33                   |
| 5.3. Conclusões   | 33<br>41                   |

|   | Pág |
|---|-----|
| 7. EXPERIMENTO IV (Efeito de diferentes concentrações de BAP e ANA sobre ápices caulinares de Jatropha podagrica Hook in vitro) |     |
| /.1. Material e métodos   |     |
| 7.2. Resultados e discussão   |     |
| 7.3. Conclusões   |     |
| 8. EXPERIMENTO V (Efeito de diferentes concentrações de BAP e ANA sobre folhas  |     |
| de Jatropha podagrica Hook in vitro)  |     |
| 8.1. Material e metodos   |     |
| 8.2. Resultados e discussão   |     |
| 8.3. Conclusões   |     |
| 9. ACLIMATIZAÇÃO  |     |
| 10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS  |     |
| ANEXOS  |     |
| APÊNDICES   |     |
| TI ENDICES  |     |

## LISTA DE TABELAS

| TABELA |   | PÁGINA    |
|--------|---|-----------|
| 1      | Resumo da análise de variância para porcentagem de germinação, tempo de germinação, altura de plantas e número de raízes de <i>Jatropha podagrica</i> Hook em função das concentrações de carvão ativado e GA <sub>3</sub> . UFLA, Lavras/MG. 1995. | 18        |
| 2      | Resumo da análise de variância para altura de plantas e número de raízes em função das diferentes concentrações de sacarose. UFLA, Lavras/MG. 1995.   | 29        |
| 3      | Resumo da análise de variância para peso de calos provenientes de raízes de <i>Jatropha podagrica</i> Hook para as concentrações de cinetina e 2,4D. UFLA,Lavras/MG. 1995   | 33        |
| 4      | Resumo da análise de variância para peso de calos provenientes de folhas de <i>Jatropha podagrica</i> Hook para as concentrações de cinetina e 2,4D. UFLA, Lavras/MG. 1995  | 33        |
| 5      | Resumo da analise de variância para peso de calos provenientes de caules de <i>Jatropha podagrica</i> Hook para as diferentes concentrações de cinetina e 2,4D UFLA,Lavras/MG. 1995   | 34        |
| 6      | Resumo da analise de variância para número de gemas, altura de plantas (cm) e tamanho de calos (cm) de <i>Jatropha podagrica</i> Hook sob diferentes concentrações de BAP e ANA. UFLA, Lavras/MG 1995.  | 42        |
| 7      | Resumo da analise de variâncias para tamanho de calos (cm) e número de brotos de <i>Jatropha podagrica</i> Hook em função de diferentes concentrações de BAP e ANA LIFLA Lavras/MG  | <b>42</b> |
|        | 1995  | 46        |

## LISTA DE FIGURAS

| FIGURA |   | PÁGINA |
|--------|---|--------|
| 1      | Efeito de diferentes concentrações de GA <sub>3</sub> dentro de carvão ativado sobre o IVG (índice de velocidade de germinação) de embriões imaturos in vitro de Jatropha podagrica Hook. UFLA, Lavras/MG. 1995   | 20     |
| 2      | Efeito de diferentes concentrações de carvão ativado dentro de GA3 sobre o IVG de embriões imaturos in vitro de Jatropha podagrica Hook. UFLA, Lavras/MG. 1995  | 21     |
| 3      | Efeito de diferentes concentrações de carvão ativado sobre o índice de velocidade de germinação (IVG) de embriões imaturos in vitro de Jatropha podagrica Hook. UFLA, Lavras/MG. 1995                             | 22     |
| 4      | Efeito de diferentes concentrações de carvão ativado dentro de GA <sub>3</sub> sobre o IVG de embriões imaturos in vitro de Jatropha podagrica Hook. UFLA, Lavras/MG. 1995  | 23     |
| 5      | Efeito de diferentes concentrações de GA <sub>3</sub> sobre a porcentagem de germinação <i>in</i> vitro de embriões imaturos de <i>Jatropha podagrica</i> Hook. UFLA, Lavras/MG. 1995                             | 24     |
| 6      | Efeito de diferentes concentrações de GA <sub>3</sub> dentro de carvão ativado sobre o número de raízes produzidas in vitro a partir de embriões imaturos de <i>Jatropha podagrica</i> Hook UFLA, Lavras/MG. 1995 | 25     |
| 7      | Efeito de diferentes concentrações de carvão ativado dentro de GA <sub>3</sub> sobre o número de raízes produzidas in vitro a partir de embriões imaturos de <i>Jatropha podagrica</i> Hook UFLA, Lavras/MG. 1995 | 26     |
| 8      | Efeito de diferentes concentrações de sacarose sobre a altura de plantas provenientes de embriões imaturos de <i>Jatropha podagrica</i> Hook <i>in vitro</i> .UFLA, Lavras/MG. 1995                               | 30     |
| 9      | Efeito de diferentes concentrações de sacarose sobre o número de raízes de plantas provenientes de embriões de <i>Jatropha podagrica</i> Hook <i>in vitro</i> .UFLA,Lavras/MG. 1995                               | 31     |

| 10 | Efeito de diferentes concentrações de cinetina dentro de 2,4D sobre o peso de calos provenientes de folhas de <i>Jatropha podagrica</i> Hook <i>in vitro</i> UFLA, Lavras/Mg. 1995  | 36 |
|----|---|----|
| 11 | Efeito de diferentes concentrações de 2,4D dentro de cinetina sobre o peso de calos provenientes de folhas de <i>Jatropha podagrica</i> Hook <i>in vitro</i> .UFLA, Lavras/MG. 1995 | 37 |
| 12 | Efeito de diferentes concentrações de 2,4D dentro de cinetina sobre o peso de calos provenientes de raízes de <i>Jatropha podagrica</i> Hook <i>in vitro</i> .UFLA, Lavras/MG. 1995 | 38 |
| 13 | Efeito de diferentes concentrações de cinetina dentro de 2,4D sobre o peso de calos provenientes de raizes de Jatropha podagrica Hook in vitro.UFLA, Lavras/MG. 1995                | 39 |
| 14 | Efeito de diferentes concentrações de BAP sobre o tamanho de calos provenientes de ápides caulinares de <i>Jatropha podagrica</i> Hook <i>in vitro</i> .UFLA, Lavras/MG. 1995       | 43 |
| 15 | Efeito de diferentes concentrações de BAP sobre o número de gemas provenientes de ápices caulinares de <i>Jatropha podagrica</i> Hook <i>in vitro</i> .UFLA, Lavras/MG. 1995        | 44 |
| 16 | Efeito de diferentes concentrações de ANA dentro de BAP sobre o número de brotos provenientes de folhas de <i>Jatropha podagrica</i> Hook <i>in vitro</i> .UFLA, Lavras/MG. 1995    | 48 |
| 17 | Efeito de diferentes concentrações de ANA dentro do BAP sobre o tamanho de calos provenientes de folhas de <i>Jatropha podagrica</i> Hook <i>in vitro</i> .UFLA, Lavras/MG. 1995    | 49 |
| 18 | Efeito de diferentes concentrações de BAP dentro de ANA sobre o número de brotos provenientes de folhas de <i>Jatropha podagrica</i> Hook <i>in vitro</i> .UFLA, Lavras/Mg. 1995    | 50 |
| 19 | Efeito de diferentes concentrações de BAP dentro de ANA sobre o tamanho de calos provenientes de folhas de <i>Jatropha podagrica</i> Hook <i>in vitro</i> .UFLA, Lavras/MG. 1995    | 51 |

### LISTAS DE ABREVIATURAS

ANA - Ácido naftalenoacético BAP -6-Benzilaminopurina - 06-Furfurilamino - purina - Ácido Giberélico Cinetina

 $GA_3$ HCL - Ácido Clorídrico

Meio básico de Murashige e Skoog (1962)Hidroxido de Sódio MS

NaOH

2,4D - Ácido 2,4 - Diclorofenoxiacético

- Tetrametilpirazina TMPZ

#### **RESUMO**

SPERA, M.R.N. Propagação in vitro de Jatropha podagrica Hook. Lavras: UFLA, 1995. 78p (Dissertação - Mestrado em Cultura de Tecidos)

Neste trabalho estudou-se a multiplicação in vitro de Jatropha podagrica Hook no meio de cultura MS em combinações de reguladores de crescimento (GA3, cinetina, ANA, BAP, AIB e 2,4D), carvão ativado e sacarose. Os experimentos foram conduzidos em sala de crescimento com temperatura de 26 ± 1°C e fotoperíodo de 16 horas, com intensidade luminosa de 2.500 lux.. Os explantes foram embriões imaturos. A maior porcentagem de germinação ocorreu nas concentrações de 0,029 e 2,9 µM de GA3. O maior número de raízes foi observado na concentração de 0,5 g.L-1 de carvão ativado e 2,9 µM de GA3. O maior IVG de embriões ocorreu nas concentraões 0 e 2 g.L-1 de carvão ativado e 0,029 µM de GA<sub>3</sub>. Para as diferentes concentrações de sacarose utilizadas a melhor concentração foi 30 g.L-1. Nas diferentes concentrações de cinetina testadas, os melhores resultados para peso de calos provenientes de folhas ocorreram nas concentrações de 4,5 e 9,1  $\mu M$  de 2,4D. Na concentração de 4,6  $\mu M$  de cinetina ocorreu maior peso de calos provenientes de raízes na concentração de 4,5 µM de 2,4D. Não houve diferenças significativas para calos provenientes de caules, embora tenha-se notado bons resultados. Quando usou-se como explantes ápices caulinares originários de plantacultivadas in vitro verificou-se que dentro das concentrações de ANA, tanto para número de

Orientador: Prof. Dr. Moacir Pasqual. Membros da banca: Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga, Prof. Dr. José Darlan Ramos.

gemas quanto para tamanho de calos, ocorreu crescimento linear. Para tamanho de calos a melhor concentração de BAP foi 17,8 μM, e para número de gemas, 4,4 μM. Quando os explantes foram folhas originárias de plantas cultivadas *in vitro* para as concentrações de ANA (0 à 0,54 μΜ) e para a concentração de 17,8 μM de BAP, verificou-se um crescimento continuo no número de brotos. Nas concentrações de 0,05 e 0,54 μM de ANA houve crescimento significativo do tamanho de calos para as diferentes concentrações de BAP (0 à 17,8 μΜ). Para o número de brotos os resultados obtidos não foram satisfatórios por ter apresentado crescimento menor que 1.0 cm e em média menos de um broto por explante.

#### **SUMMARY**

# THE IN VITRO MULTIPLICATION OF Jatropha podagrica HOOK.

The in vitro multiplication of Jatropha podagrica Hook, in MS medium was studied in combinations with growth regulators (GA3, kinetin, ANN, BA, IBA and 2,4D), active charcoal and sucrosis. The experiments take place in a climatized room, under controled temperature at 26°C, 16 hours photoperiod and 2,500 lux. The explants were imature embryos. The best IVG (germination velocity index) of embrios occured at concentrations of 0 and 2.0 g.L<sup>-1</sup> active charcoal and 0.029  $\mu M$  GA<sub>3</sub>. The best percentage of germination occured at concentrations of 0.029  $\mu M$  and 0.29  $\mu M$  GA<sub>3</sub>. The best number of roots occured at concentration 0.5 g.L<sup>-1</sup> of active charcoal and 2.9  $\mu M$  GA<sub>3</sub>. The best concentration of sucrosis tested was 30 g.L<sup>-1</sup>. When different concentrations of kinetin were tested, the best results for weight of callus originated from leaves, was observed at concentrations 4.5 and 9.1  $\mu$ M 2,4D. The best weight of callus, originated from roots, was found at concentration 4.6 µM kinetin combined with 4.5 µM 2,4D. No statistic differences were found for weight of callus originated from stems, despite of good results observed. When shoot apices were used as explants cultivated in vitro with ANN and BA, a linear increase was observed at increasing of ANN concentrations for number of buds and callus size. The best callus rize occured at concentration 17.8  $\mu M$  BA and the best number of buds at 4.4  $\mu M$ BA.

The use of leaves as explantes cultived in vitro with ANN and BA showed increasing number of shoots from 0 to 0.54  $\mu$ M ANN when combinated with 17.8  $\mu$ M BA.

A statistic increasing of callus size was found in the concentrations of BA from 0 to  $17.8~\mu M$  BA when combinated with 0.05 or 0.54  $\mu M$  ANN. Unsatisfactory results were given to number of shoots, for the reason that the height was less than 1.0 cm and it was formed, on an average, less than on shoot per explant.

### 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, o interesse pela floricultura e plantas ornamentais começou a ter destaque no início dos anos 70, apresentando imensas possibilidades, principalmente como cultura comercial. O Brasil tem o privilégio de possuir uma das floras naturais mais ricas do mundo, e a floricultura vem tomando um grande impulso nos últimos anos, embora as técnicas em uso ainda não se comparam àquelas empregadas nos países do hemisfério Norte.

Os principais centros de comercialização de plantas ornamentais no Brasil são: São Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte, Brasilia, Porto Alegre, Curitiba, Salvador, Recife, Vitória e Manaus (Castro e Minami, 1988). Embora as exportações dos produtos da floricultura ainda sejam pequenos em relação a outros produtos, as oportunidades apresentamse cada vez maiores, e atualmente o País exporta regularmente rosas, gladíolos, folhagens, flores secas e orquídeas, enquanto antúrios e crisântemos, participam esporadicamente das exportações (Matthes et al., 1985).

Atualmente, a produção nacional de plantas ornamentais está em torno de US\$ 200 milhões, sendo exportadas 5% desse valor para países da Europa, América do Norte, Asia (CPA-SAA/SP, 1991).

Contudo, ainda são escassas as informações referentes ao setor de floricultura geradas pelas pesquisas científicas, embora o setor possibilite lucros rápidos, ocupação de áreas

impróprias para outros cultivos, denotando uma alternativa para pequenos e médios agricultores.

Jatropha é um gênero com aproximadamente 160 espécies de ervas e arbustos, pertencente a família Euphorbiaceae. Entre as espécies, varías apresentam valor medicinal (Ojewole e Odebiyi, 1980), ornamental (Sujatha e Dhingra, 1993) e outras são estudadas como produtoras de óleo (Munch e Kiefer, 1989). A Jatropha podagrica Hook, além de ser planta medicinal apresenta valor ornamental pela sua rusticidade e beleza exótica.

A cultura de tecidos tem sido utilizada como um meio rápido de propagação vegetativa na horticultura ornamental, possibilitando a produção de propágulos livres de doenças que podem ser facilmente disseminadas, além de contribuir de forma decisiva nos processos de propagação daquelas espécies com problemas de ordem fisiológicas e também auxiliando plantas de dificil propagação como por exemplo a *Jatropha podagrica* Hook.

O objetivo deste trabalho foi definir concentrações de reguladores de crescimento (GA<sub>3</sub>, cinetina, ANA, BAP, AIB e 2,4D), carvão ativado e sacarose para propagação *in vitro* de *Jatropha podagrica* Hook e acompanhamento das plântulas até a fase de aclimatização.

#### 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

# 2.1 Jatropha podagrica como planta ornamental

O caule da *J. podagrica* Hook surge como uma dilatação em forma de clava (despertando o interesse dos colecionadores), amadurecendo de forma grotescamente nodosa, originando um tronco do qual surgem ramos semelhantes a dedos. As folhas são verdes, claras, lisas, sendo geradas em pecíolos longos, agrupados nas extremidades de crescimento dos ramos; sendo marcadas com cicatrizes foliares proeminentes. As flores são inseridas em pecíolos longos com pétalas vermelho laranja brilhantes, ocasionalmente se autofertilizam para produzir sementes que assemelham-se às de girassol, pesadas e levemente achatadas. (Rodriguez, 1993).

Segundo Ojewole e Odebiyi (1980), frequentemente a *J. podagrica* Hook é usada como planta de cerca viva. Ela apresenta um grande valor ornamental pela sua rusticidade e beleza exótica, sendo utilizada em canteiros e jardins. A *J. podagrica* Hook é largamente utilizada como planta ornamental na Índia (Sundar Rao e Lakshminarayana, 1987).

# 2.2 Jatropha como planta medicinal

Odebiyi (1985) observou a presença de taninos e tetrametilpirazina (TMPZ) em caule de *J. podagrica*. As ações anti-microbianas, neuromusculares e cardiovascular do extrato desta planta foram atribuidas à presença do TMPZ, que é um alcalóide com propriedades anti-microbianas, hipotensiva, anticolinergica e esquistosomicidica. Ainda foi isolado do extrato de

J. podagrica uma nova flavona, a 5-hydroxy, 7,4-dimethoxyflavone que mostrou atividade anti-microbiana.

As folhas, caules e raízes de *J. podagrica* Hook são usadas na medicina tradicional para diferentes propósitos: contra febre, como diurético e enxaguante bucal; caule e raízes como goma de mascar, tratamento de jaundice, gonorreia e como purgantes (Odebiyi, 1980).

A TMPZ obtida da *J. podagrica* Hook apresenta atividades hipotensivas e de bloqueamento neuromuscular em animais experimentais. Odewole e Odebiyi (1981), estudando o mecanismo do efeito hipotensivo deste alcaloide de amida, concluiram que este provavelmente causa hipotensão em animais experimentais dilatando os vasos sanguíneos e ou atuando como agente espasmolítico não específico.

Várias partes de plantas de *J. podagrica* Hook são largamente utilizadas pela medicina popular tradicional da África Ocidental. Óleos e sementes de *J. multifida e J. curcas* (noz-médica e noz-de-purga) são frequentementes usados como purgativos em países tropicais, entretanto elas podem causar forte irritação e envenenamento ("óleo infernal"). A alta toxicidade de sementes de *J. curcas* foi demonstrada para camundongos e cabras. A *J. gossipifolia* é frequentemente usada como um chá na América Central e sua infusão é um dos remédios mais frequentemente usados pela população de Curação. Seu uso pode estar relacionado com a alta taxa de incidência de câncer de exofago neste país. Extratos da planta também tem sido usados para tratar tumores cancerosos (Adolf, Opferkuch e Hecker, 1984, citando vários autores).

As propriedades antibronquioconstrutora e antiarritimica da tetrametilpirazina isolada de ramos de *J. podagrica* foram estudadas, e verificou-se que este alcaloide causa relaxamento de contrações induzidas nos músculos traqueiais isolados de cobaias. O composto também protege e causa supressão de arritimias induzidas por quabainas em cobaias (Ojewole, 1983).

Ojewole e Odebiyi (1984), estudando a TMPZ descobriram que o alcaloíde possui uma bateria de atividades farmacológicas. Entre seus principais efeitos inclui-se: abaixamento da pressão sanguinea arterial em animais nosmotensivos anestesiados; indução de respostas negativas cromotropicais e inotipicas em tiras isoladas de músculo atrial; relaxamento de músculos lisos vasculares e extravasculares isolados, inibição de contrações ou relaxamentos eletricamente provocados e agonista induzida para preparação de isolados de músculos lisos; inibição de contrações musculares eletricamente evocadas do musculo esquelético e indução de diurese. O TMPZ isolado de casca do tronco da *J. podagrica* Hook (LD50 = 0,8g/kg de comundongos) é miracídia e cercariacídica, porém não ovidicidia numa concentração mínima de 100 mg/ml. Isto equivale aos efeitos dos produtos Ambilhar, Boyluscide e Miracil. Concentrações sub-letais (125-800 mg/ml do TMPZ impedem o desenvolvimento dos miracídios para as cercarias do caramujo transmissor da "bilharzia" (Adewunmi e Odebiyi, 1985).

# 2.3 Jatropha como produtora de óleo.

No Brasil, entre as mais promissoras plantas oleaginosas não comestíveis, podem ser citadas algumas espécies de pinhões pertencentes ao gênero *Jatropha*, cujo óleo apresentou os melhores resultados como combustível para motor diesel (Oliveira, 1979). Das

várias espécies nativas do Brasil, as mais indicadas para a produção de óleo são *J. curcas* e *J. moltissima*, conhecidas pelos nomes vulgares de pinhão-paraguaio ou pinhão-manso e de pinhão-bravo, respectivamente (Paiva Rio, 1982).

A espécie de *Jatropha* mais extensivamente estudada ao longo dos tempos tem sido a *J. curcas* (pinhão-paraguaio), assim, procurou-se estabelecer diferentes introduções para tornar possível a análise da variabilidade genética na espécie. Atualmente são disponíveis introduções nos Estados de São Paulo, Mato Grosso e região Nordeste. A coleção do Instituto Agronômico de Campinas conta com mais de seis espécies sendo elas *J. elliptica*, *J. gossypiifolia*, *J. mollissima*, *J. multifida*, *J. podagrica* e *J. weddelliana*, além de dois híbridos. Observações sobre cada uma dessas espécies, estão sendo acumuladas o que possibilitará, caso seja necessário, o planejamento de um programa para transferência de caracteres agronômicos favoráveis de algumas delas para *J. curcas* (Forni-Martins e Cruz, 1985).

Ensaios feitos com o óleo extraído da *J. curcas* L. (óleo-de-purgueira), comparando-o com o diesel, mostraram bons resultados. Num motor diesel, para gerar a mesma potência, o consumo de óleo-de-purgueira foi 20% maior, com ruído mais suave e emissão de fumaça semelhante. Considerou-se também possível o uso desse óleo, não apenas como combustível, mas também na indústria de tintas e de vernizes. Análise posteriores mostram que o óleo de pinhão-manso (*J. curcas*) tem 83,9% do poder calorico do óleo diesel, e o óleo de pinhão-bravo (*J. pohliana* M), 77,2%. Além disso, a torta restante é um fertilizante rico em nitrogênio, potássio, fósforo e matéria orgânica. Desintoxicada, a torta pode ser também transformada em ração como tem sido feito com a torta de mamona. A casca dos

pinhões pode ser usada como carvão vegetal e matéria prima na fabricação de papel (Guia Rural Abril, 1986).

Sundar Rao e Lakshminarayana (1987) estudaram características e composição das sementes da *J. pandureaefolia* e *J. podagrica* e encontraram respectivamente 33,2% e 34,1% de óleo, e ainda 12,5; 15,0% de proteina. Os óleos foram examinados em suas características físico-químicas e composição de ácidos graxos. O ácido graxo predominante foi linoleico com 79,8 % em *J. pandureafolia* e 71,4 % em *J. podagrica*.

J. curcas é um arbusto bem conhecido na América do Sul, devido suas propriedades medicinais e como planta oleaginosa. É uma cultura adequada para pequenos agricultores pobres, em terras marginais, uma vez que exige muito pouco investimento. É também resistente a seca e não é devorada por animais domésticos (Munch e Kiefer, 1989).

Segundo Guia Rural Abril (1986), o gênero *Jatropha* é bastante promissor por ser plantas de ocorrência espontânea em áreas de solos pouco férteis e de clima desfavorável à maioria das culturas alimentares tradicionais. O pinhão-paraguaio pode ser considerado uma das mais promissoras oleaginosas do Nordeste, apresentando ainda como vantagens o fato de não ser afetada até o presente por nenhuma praga. É altamente resistente a doenças e os insetos não o atacam, pois ele segrega substâncias causticas.

## 2.4 Propagação in vitro

A biotecnologia, ou mais precisamente, a técnica de cultivo *in vitro* possibilita reproduzir centenas e até milhares de exemplares geneticamente iguais e apartir de um único explante proveniente de uma matriz e livre de doenças. A cultura de tecidos, quando associada

à tecnologia do DNA recombinante, permite o isolamento, a modificação e a transferência precisa e específica da expressão gênica (Fernandes, 1987).

No cultivo *in vitro* o meio de cultura é considerado um fator de suma importância segundo Grattapaglia e Machado (1990), componentes ricos em energia, vitaminas e fitorreguladores são adicionados para suprir as deficiências dos teores endógenos do próprio explante de maneira à estimular respostas para diferenciação, crescimento, alongamento, multiplicação e enraizamento, de acordo com as concentrações e ainda do próprio estado fisiológico do explante.

Segundo Pasqual e Barros (1991) em cultura de tecidos é bastante comum encontrar resultados conflitantes em se tratando de experimentos realizados por diferentes pesquisadores ou até por um mesmo pesquisador com a mesma espécie e com metodologias muito semelhante.

As semelhanças físico-morfológicas que existem entre espécies distintas se especificam pela existência de elementos comuns no habitat onde as formas se encontram para fazer a transferência das plântulas, faz-se necessário para uma boa aclimatização que as mesmas estejam sadias e não demonstrem nenhum sintoma de deficiência radicular (Viana, 1981).

Segundo Hoffmann, Antunes e Oliveira Júnior (1995) é no período de aclimatização que a planta vai começar a ativar seus fotossistemas I e II e a formação de cloroplastos; responsáveis pela transformação da energia luminosa em química, entre outros fatores fisiológicos, para que todo este processo seja perfeito e a planta se constitua de todas as suas estruturas funcionais, essenciais para seu desenvolvimento. O principal obstáculo encontrado na aclimatização é o baixo rendimento encontrado, ou seja, produz-se um número

muito grande de plantas micropropagadas mantidas em sala de crescimento que, no entanto, quando da transferência ocorre perda de muitas plantas. Para tanto, fatores tais como luz, temperatura, CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, água, devem ser eficazmente controlados. O meio externo deve apresentar, por exemplo, uma concentração de CO<sub>2</sub> ideal no início do processo de aclimatização para que a planta não produza nenhum tipo de inibição fisiológica (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ácido fisiológico) no seu desenvolvimento. A luz é outro fator que deve ser controlado e sofrer aumento em sua intensidade gradativamente, pois a planta não possui condições fisiológicas suficientes ainda para total absorção luminosa, e desta forma causaria uma limitação em excesso. A temperatura marca a faixa ótima para a planta desenvolver seu metabolismo perfeitamente, no entanto, deve sofrer assim como a luz, aumento gradativo. Deve-se atentar ainda para a relação hídrica para que não seja demais, nem de menos. De uma forma geral, quando todas estas características forem atendidas simultaneamente, a planta estará recebendo condições básicas e necessárias para poder se desenvolver plenamente, se preparando para a transferência final no campo com condições fisiológicas satisfatórias para isto.

Brotos enraizados de *Euphorbia fulgens* cultivadas em Plantimax não mostraram crescimento sob neblina intermitente, mas formaram novas folhas quando transferidas para sombra. Quando plantadas em solo, as folhas velhas que haviam sido formados *in vitro* murcharam e caíram, sendo substituídas por novas folhas durante a primeira semana. As taxas de sobrevivência diferiram em relação às condições ambientais. Todas as plantinhas sobreviveram quando receberam 6 dias de neblina, 6 dias de sombra e levadas a seguir ao sol. Algumas das plantinhas colocadas diretamente na sombra murcharam e morreram enquanto que aquelas submetidas a 14 dias de neblina apresentaram podridão de raiz. Período

longo de sombra seguida de neblina resultaram também em perda de plantas (Zhang, Stoltz e Snyder, 1987).

A J. integerrima é geralmente propagada por estacas uma vez que a cápsula é extremamente suscetível a estilhaçamento, Sujatha e Dhingra (1993) relatam que cápsulas coletadas no estádio de pré-deiscência são atacadas por fungos saprofitos resultando em perda da viabilidade da semente. Este fato também ocorre com a J. podagrica Hook, sendo portanto, necessário coletar as sementes antes do estádio de pré-deiscência e logo colocá-las para germinar in vitro, a fim de evitar o ataque dos fungos saprófitos. Forni-Martins e Cruz (1985), testando diferentes tipos de substratos e diferentes diâmetros de estacas do gênero Jatropha, verificaram que o último fator foi o limitante para a propagação de plantas deste gênero por estaquia. Foi também observado que a estaca deve ser lenhosa, ter cerca de 30 centímetros de comprimento, sendo necessário desprezar os ápices dos ramos de diâmetros reduzidos. Estas são portanto, as principais razões de se propagar a J. podagrica in vitro.

Pasqual (1990) afirma que o carvão ativado é amplamente utilizado para estimular o desenvolvimento de vários explantes, tendo ainda a função de adsorver substâncias tóxicas presentes no meio.

As giberelinas estimulam o crescimento das plantas, agindo sobre o alongamento celular (Gardner e Pearce, 1985; e Mitchell, 1985) A combinação de tipos e concentrações de reguladores de crescimento é fundamental para o desenvolvimento *in vitro*, no entanto, nenhum regulador de crescimento ou concentração deste pode ser identificada como sendo ótimo para produção de brotos para todas as cultivares, mesmo sendo de uma mesma espécie, conforme Malaure et al. (1991).

LaMotte (1984) relata que o GA<sub>3</sub> atua em tecidos de crescimento com ativa divisão celular em regiões de meristemas subapicais, bem como em tecidos em crescimento sem divisão celular, ou seja,nas regiões de alongamento. As giberelinas possuem um efeito notável no alongamento do caule primário e esse efeito em tecidos jovens e centros de crescimentos (meristemas) é caracterizado por um aumento no tamanho das células, ou na alta taxa de divisão celular, ou ambas (Nickell, 1982).

Na cultura de embriões jovens, reguladores de crescimento são muitas vezes utilizados para evitar a germinação precoce ou para estimular o crescimento embrionário. Dependendo da espécie, o embrião jovem pode ser estimulado a crescer por meio de citocininas, auxinas ou por giberelinas (Hu e Ferreira, 1990).

Segundo Pasqual, Ribeiro e Ramos (1990) há necessidade dos embriões evoluírem, através das diversas fases de desenvolvimento, antes de serem submetidos ao processo de enraizamento. O melhor enraizamento de embriões foi obtido com 0,029 e 0,29 μM de GA<sub>3</sub> e 1 g.L<sup>-1</sup> de carvão ativado, conforme observado em embriões de Laranja "Natal".

Bini, Leva e Vicese (1983), estudando a multiplicação de *Rosa indica major* por gemas axilares verificaram ocorrência de clorose e vitrificação pela adição de zeatina. Estes autores observaram também que a presença de AIB em combinação com BAP diminuiu o coeficiente de multiplicação em relação ao meio que continha apenas a citocinina.

Ribas e Zanette (1992), seguindo metodologia de Zimmerman (1984), regeneraram meristemas de macieira em meio MS com 4,4 μM de BAP e 0,29 μM de GA<sub>3</sub> e verificaram que 4,4 e 1,1 μM de BAP foram as concentrações mais eficientes para multiplicação e alongamento *in vitro* respectivamente. Os autores constataram também que o

enraizamento foi melhor ao utilizar 0,98  $\mu M$  de AIB em meio MS com um quarto de sua concentração.

Resende (1985), trabalhando com batata (*Solamum tuberosum* L.) verificou que o melhor desenvolvimento dos meristemas ocorreu com o uso da combinação de reguladores de crescimento, sendo 0,05 μM de ANA, 0,29 μM de GA<sub>3</sub> e 4,4 μM BAP em meio MS. O maior alongamento das brotações ocorreu nas doses de 1,4μM de GA<sub>3</sub> e 22,2μM de BAP. Bonin (1988), trabalhando também com batata, verificou que para a primeira multiplicação, a concentração mais adequada foi 0,05 μM de ANA e 0,29 μM de GA<sub>3</sub>.

Giberelinas e AIA promovem elongamento celular, induzem partenocarpia, promovem atividades câmbiais e ainda estimulam sintese de proteínas. A luz também causa inibição do crescimento do caule em certas plantas via rebaixamento do nível de giberelinas disponível na planta. Esta inibição é superada através da aplicação exógena de giberelinas na planta (Deviin e Wirthan, 1983).

As citocininas tem como função primordial a divisão celular (Taiz e Zeiger, 1991). George e Sherrington (1984) sugerem que estas substâncias podem estar envolvidas na síntese de proteínas fundamentais ao processo de mitose (Blakesley e Constantine 1992).

Prasad e Chaturvedi (1988), testando o efeito de BAP e cinetina em crisântemo, observaram que a cinetina, em todas as concentrações utilizadas, foi menos efetiva do que o BAP em concentrações similares, na formação de brotos e de calos.

Barbosa et al. (1983), estudando gérbera (Gerbera jamensonii Bolus ex Hook) com o objetivo de avaliar a taxa de multiplicação in vitro da cultivar Appelbloesem, em função

de diferentes concentrações de BAP e AIA, concluíram que melhores resultados, quanto a taxa de multiplicação, ocorreram a 4,4 µM de BAP independente do nível de AIA utilizado.

A estimulação da divisão celular e subsequente crescimento de calos na presença de auxinas parecem ser características de todas as citocininas. Se a relação citocinina: auxina for alta há desenvolvimento de caules e folhas e quando a relação citocinina: auxina é baixa há desenvolvimento de calos (Deviin e Withan, 1983).

Hasegawa (1980), cultivando gemas apicais e laterais de *Rosa hybrida* cultivar Improiced Blaze, obteve a formação de multiplas brotações em meio MS suplementando com 13,3 μM de BAP e 1,6 μM de ANA. Após oito semanas em cultura o número de brotos foi triplicado. O subcultivo de tais brotos no mesmo meio resultou num aumento de seis vezes no mesmo período.

O cultivo *in vitro* de nós ou ápices de hastes foliares de *Rosa indica major* em meio composto pelos sais de MS, suplementado com 8,9 μM de BAP, produziu múltiplas hastes que enraizaram 100% quando tratadas com ANA à concentração de 0,54 μM, conforme Avramis, Hubard e Jonard (1982).

Grattapaglia e Machado (1990) mencionaram que entre as citocininas comercialmente disponíveis o BAP é a que apresenta melhores resultados, é mais barata e consequentemente é a mais utilizada. Entretanto, como as outras citocininas, em doses excessivas pode ser tóxica, toxidez esta que se caracteriza pelo entufamento e falta de alongamento das culturas.

Explantes de folhas e caule *Rosa manettii* e *Rosa hybrida* Tropicana foram utilizadas por Khosh-Khui e Sink (1982) para determinar condições ótimas para iniciação e manutenção de calos. Após três semanas em meio MS mais 9,1 μM de 2,4D, 1,2 μM de cinetina e 2 g.L<sup>-1</sup> de caseína hidrolisada, foram obtidos em ambas as espécies calos friáveis e de rápido crescimento. Os calos obtidos foram colocados em diferentes meios com BAP, cinetina e ANA em várias concentrações, porém não se verificou a regeneração de brotos ou raízes.

De Paula et al. (1990), estudando várias espécies, entre elas *Ipomoea batatas* e *Solanum tuberosum* L., utilizaram o meio MS suplementado com 22,6 μM de 2,4 D e 4,6 μM de cinetina, para produção de calos e obtiveram bons resultados.

Segundo Zhang e Stoltz (1989) entre os níveis de zeatina testados, 5 μM foi ótimo para produção de brotos de *Euphorbia fulgens* e o meio sem zeatina produziu apenas 1 broto por explante. Altos níveis de zeatina (acima de 15 μM) inibiram a produção e crescimento de brotos. Numerosas gemas são obtidas diretamente do pecíolo ou em explantes de internós de *E. pulcherrima* cultivados *in vitro*. (Langhe, Debergh e Van Rick, 1974).

Para a propagação *in vitro* de *Euphorbia fulgens* foram utilizadas diferentes concentrações de zeatina (4,5; 9,1; 14 e 23 μM), registrando-se melhor resultado com 9,1 μM em explantes de segmentos nodais e extremidades de brotos (5mm) onde ocorreu a proliferação de brotos (Zhang, Stoltz e Snyder, 1987). Também estes mesmos autores constataram que nenhum dos segmentos nodais ou extremidades de brotos originalmente cultivados em meios suplementados com outras citocininas iniciaram brotos ou gemas. Porém, 20 a 30% dos

segmentos nodais derivados *in vitro* de meios suplementados por zeatina produziram brotos quando transferidos ao meio com BAP e cinetina respectivamente.

Zhang, Stoltz e Snyder (1987) constataram que todos os brotos enraizaram em meio basal com ou sem vitaminas e glicina ou com 2,5 μM AIB. As concentrações de ANA tem efeito negativo no enraizamento. Concentrações de AIB acima de 2,5 μM também reduziram o crescimento de *E. fulgens*. Em concentrações mais altas, ANA e ou AIB inibem o enraizamento e a alongação da raiz porém, estimulam a proliferação de calos na base dos microbrotos.

Brotos adventícios de *J. integernima* foram induzidos (através dos explantes talo, folha e pedúnculo) com as concentrações de zeatina, cinetina e BAP. Das três citocininas testadas BAP (2,2-8,9μM) com 4,9 μM de AIB, foram mais efetivas na indução múltipla de brotos. Os regenerantes obtidos são aparentemente normais embora ainda não se disponha de dados a respeito de sua fidelidade clonal (Sujatha e Dhingra, 1993).

Segundo Hu e Ferreira (1990), muitas das plântulas oriundas de cultura *in vitro* tem somente uma ou duas raízes longas e finas e se estas forem danificadas, durante o transplante, as plântulas podem morrer. Uma das estrategias é proceder a indução de um sistema radicular em forma de roseta que aumentaria a chance de sobrevivência dessas plantas.

Na cultura de tecidos, é necessária a incorporação de carbono como fonte de energia para o meio. O carboidrato no meio de cultura é essencial para o crescimento e desenvolvimento *in vitro*, pois segundo George e Sherrington (1984) e Pierik (1987), a fotossíntese é insuficiente nesta condição, não sendo os tecidos verdes suficientemente autotróficos e a concentração de CO<sub>2</sub> é limitante. Com relação a fonte de energia para o meio

de cultura, Grattapaglia e Machado (1990) recomendam sacarose por ser mais rapidamente absorvida, devendo estar presente em concentrações de 20 a 40g.L<sup>-1</sup>. Abaixo destas concentrações pode ocorrer clorose generalizada e acima destas a síntese de clorofila é dificultada e ocorre também inibição de formação de raízes. Um excessivo potencial osmótico do meio também pode deteriorar a cultura.

# 3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, Minas Gerais. O meio de cultura básico foi o de Murashige e Skoog, 1962 (Quadro 1A, anexo). solidificado com 7 g.L<sup>-1</sup> de ágar e o pH ajustado para 5,8 utilizando-se NaOH ou HCl, antes do processo de autoclavagem (121 °C, 1 atm, por 20 minutos). O experimento foi conduzido em sala de crescimento com temperatura de 26 ± 1 °C e fotoperíodo de 16 horas, com intensidade luminosa de 2.500 lux.

Os explantes foram coletados no próprio viveiro de plantas ornamentais do Departamento de Agricultura da UFLA, onde existem algumas plantas de *Jatropha podagrica* Hook.

#### 4 EXPERIMENTO I

(Efeito de diferentes concentrações de carvão ativado e GA<sub>3</sub> sobre embriões de *Jatropha* podagrica Hook in vitro).

### 4.1. Material e métodos

Os frutos foram retirados da planta mãe quando o embrião já apresentava 2 cotiledones com cerca de 0,2 a 0,5 cm de comprimento, visando facilitar a manipulação destes

embriões em condições *in vitro*. No laboratório foram retiradas as demais estruturas do fruto, permanecendo somente os cotiledones e o embrião. Posteriormente, este material foi mergulhado em hipoclorito de sódio 1% durante 20 minutos seguido de 3 lavagens sucessivas em câmara de fluxo lâminar, empregando-se água destilada e autoclavada.

O meio de cultura básico foi o de Murashige e Skoog (1962) (Quadro 1A, nos Anexos) mais carvão ativado (0; 0,5; 1,0 e 2,0 g - L<sup>-1</sup>) combinado com GA<sub>3</sub> (0; 0,029; 0,29 e 2,9 μM). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 16 tratamentos, 4 repetições, 3 tubos por parcela e 1 explante por tubo.

A avaliação do experimento foi realizada 30 dias após a instalação, através da porcentagem de germinação, altura de plantas e número de raízes. À partir do momento da instalação do experimento foi avaliado o tempo de germinação.

### 4.2 Resultados e Discussão

A Tabela 1 mostra o resumo da análise de variância, através do comportamento das variáveis, IVG (índice de velocidade de germinação) de embriões, porcentagem de germinação, altura de plantas e numeros de raízes. Foram observadas interações entre GA<sub>3</sub> e carvão ativado ao nível de 1 % de probabilidade para o IVG de embriões e ao nível de 5 % de probabilidade para número de raízes. Número de raízes mostrou significância também para carvão. Ainda para o IVG de embriões constatou-se diferenças para GA<sub>3</sub> e carvão ativado. A altura de plantas não mostrou diferenças significativas.

TABELA 1. Resumo da análise de variância para porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação de embriões, altura de plantas e número de raízes de *Jatropha podagrica* Hook em função das concentrações de carvão ativado e GA<sub>3</sub>. UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Causa de<br>Variação     | G.L. | Quadrados Médios E Significância |                       |                      |                    |
|--------------------------|------|----------------------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|
|                          |      | IVG de<br>Embriões               | % de<br>Germinação 2/ | Altura de<br>Plantas | Nº de<br>Raízes 1/ |
| GA <sub>3</sub>          | 3    | 0,0053 **                        | 10,4479 *             | 0,2739               | 0,1227             |
| Carvão                   | 3    | 0,0053 **                        | 0,5098                | 1,4243               | 0,8542 *           |
| GA <sub>3</sub> x Carvão | 9    | 0,0144 **                        | 5,3805                | 1,7961               | 0,4598 *           |
| Residuo                  | 48   | 0,0000 **                        | 3,5420                | 0,9149               | 0,2032             |
| CV%                      |      | 0,048                            | 22,65                 | 28,19                | 19,86              |

<sup>1/</sup> Dados transformados segundo raiz x

Verifica-se na Figura 1 um aumento no IVG de embriões na concentração de 0,29 μM de GA<sub>3</sub> e ausência de carvão ativado, o que concorda com Hu e Ferreira (1990), que afirmaram que dependendo da espécie, o embrião jovem pode ser estimulado a crescer por giberelinas. Na Figura 2 para a concentração de 0,5 g.L<sup>-1</sup> de carvão ativado houve uma ligeira diminuição no IVG de embriões quando associado a aumento das concentrações de GA<sub>3</sub>. Por outro lado, nas concentrações de 1 a 2 g.L<sup>-1</sup> de carvão ativado, ocorreu um pequeno aumento no IVG de embriões dentro das concentrações mais elevadas de GA<sub>3</sub>. Todavia na Figura 3 pouca influência do IVG de embriões para as diferentes concentrações de carvão ativado.

<sup>2/</sup> Dados transformados segundo raiz (x + 10)

<sup>\*</sup> Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>\*\*</sup> Significativo ao nível de 1 % de probabilidade.

Na Figura 4 observa-se que na concentração 0,029 μM de GA<sub>3</sub> houve uma maior resposta para 2 g.L<sup>-1</sup> de carvão ativado, e para a concentração de 2,9 μM de GA<sub>3</sub>, a melhor concentração de carvão ativado foi 1 g.L<sup>-1</sup>, o que concordando com Pasqual (1990) ao afirmar que o carvão ativado é amplamente usado, pois, além de estimular o desenvolvimento de explantes, tem ainda a função de adsorver substâncias tóxicas presentes no meio.

Na Figura 5, nota-se uma diminuição na porcentagem de germinação na concentração de 0,29 μM de GA<sub>3</sub>, possivelmente devido a diferença do grau de desenvolvimento (maturidade) dos embriões entre os tratamentos.

Na Figura 6, verifica-se que o número de raízes diminuiu na concentração de 0,29 μM de GA<sub>3</sub> e aumentou na concentração de 2,9 μM de GA<sub>3</sub>, quando foi usado 0,5 g.L<sup>-1</sup> de carvão ativado. Isso pode ser atribuído ao fato de que em pequenas concentrações de carvão não ocorra suficiente absorção de GA<sub>3</sub>. Nas concentrações de 1 e 2 g.L<sup>-1</sup> de carvão ativado, observou-se um pequeno aumento no número de raízes em 0,29 μM de GA<sub>3</sub> e permanecendo mais ou menos constante acima desta..

Na figura 7, observa-se que o maior número de raízes ocorreu com a concentração 0,5 g.L<sup>-1</sup> de carvão ativado e 2,9 μM de GA<sub>3</sub> obtendo-se também uma boa resposta na concentração de 1 g.L<sup>-1</sup> de carvão ativado e 0,029 μM de GA<sub>3</sub>, sendo a resposta linear para os diferentes concentrações de carvão ativado na concentração de 0,29 μM de GA<sub>3</sub>. A maior parte das plantas apresentou o número de raízes em forma de roseta, o que está de acordo com Hu e Ferreira (1990), que afirmam que a indução de um sistema radicular em forma de roseta aumenta a probabilidade de sobrevivência das plântulas.

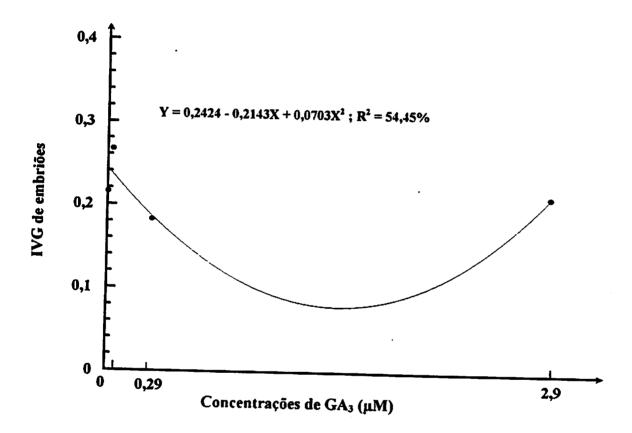


FIGURA 1. Efeito de diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> sobre o indice de velocidade de germinação (IVG) de embriões imaturos in vitro de Jatropha podagrica Hook.

UFLA, Lavras/MG. 1995.

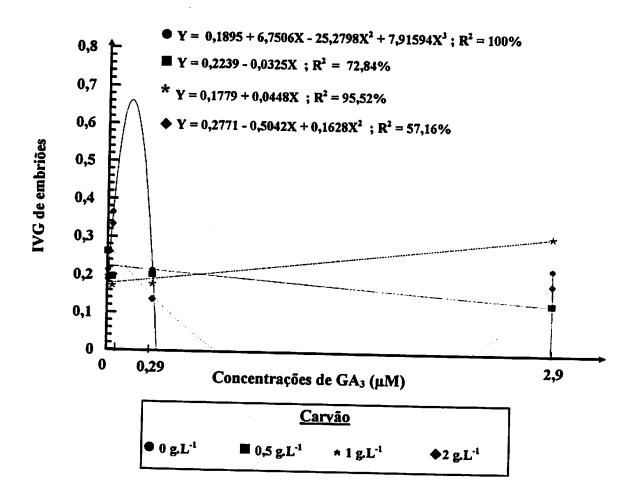


FIGURA 2. Efeito de diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> dentro de carvão ativado sobre o IVG de embriões imaturos *in* vitro de *Jatropha podagrica* Hook. UFLA, Lavras/MG. 1995.

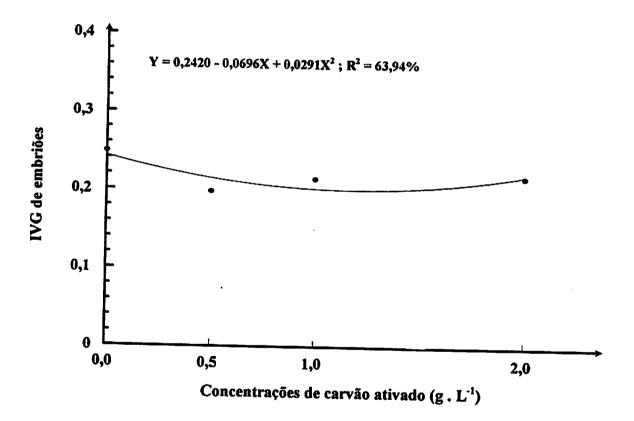


FIGURA 3 Efeito de diferentes concentrações de carvão ativado sobre o índice de velocidade de germinação (IVG) de embriões imaturos *in* vitro de *Jatropha podagrica* Hook.

UFLA, Lavras/MG. 1995.

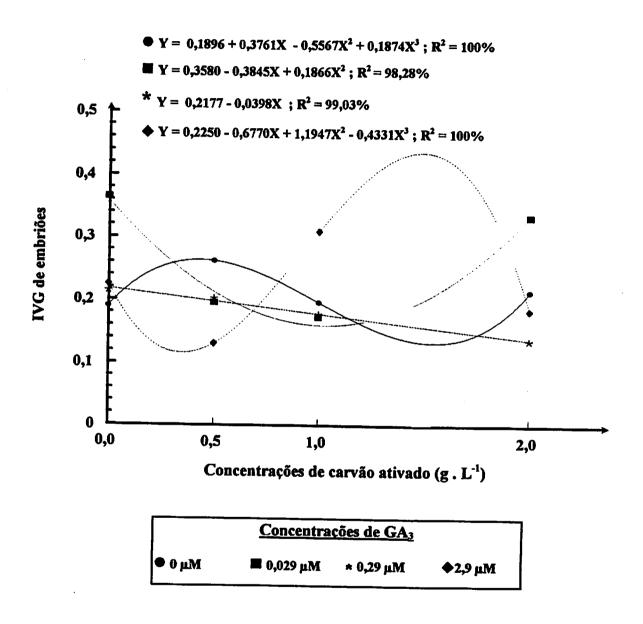


FIGURA 4. Efeito de diferentes concentrações de carvão ativado dentro de GA<sub>3</sub> sobre o IGV de embriões imaturos *in* vitro de *Jatropha podagrica* Hook. UFLA, Lavras/MG. 1995.

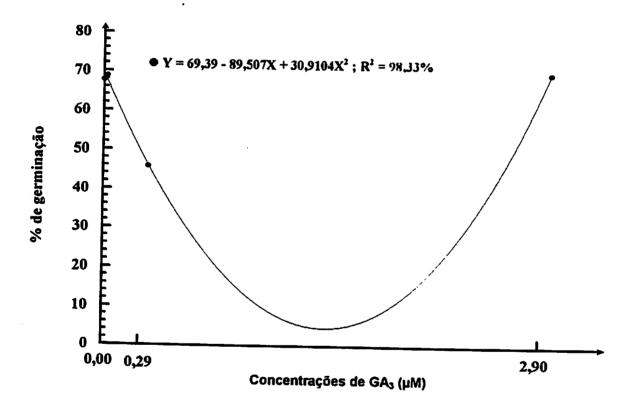


FIGURA 5. Efeito de diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> sobre a porcentagem de germinação *in* vitro de embriões imaturos de *Jatropha podagrica* Hook. UFLA, Lavras/MG. 1995.

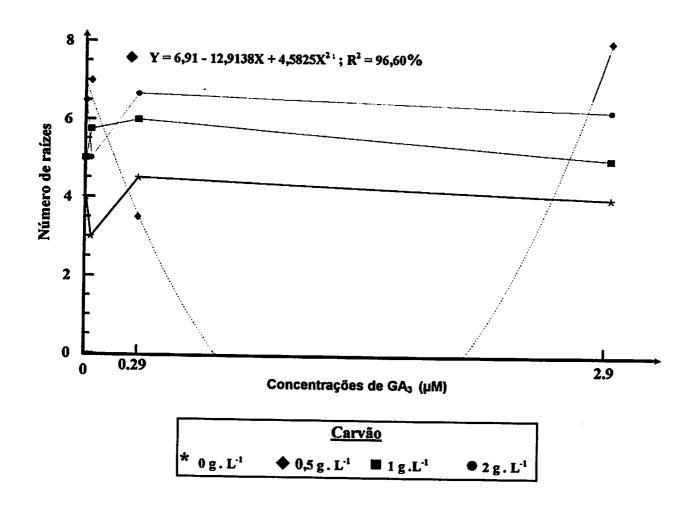


FIGURA 6. Efeito de diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> dentro de carvão ativado sobre o número de raízes produzida *in vitro* a partir de embriões imaturos de *Jatropha podagrica* Hook. UFLA, Lavras/MG. 1995.

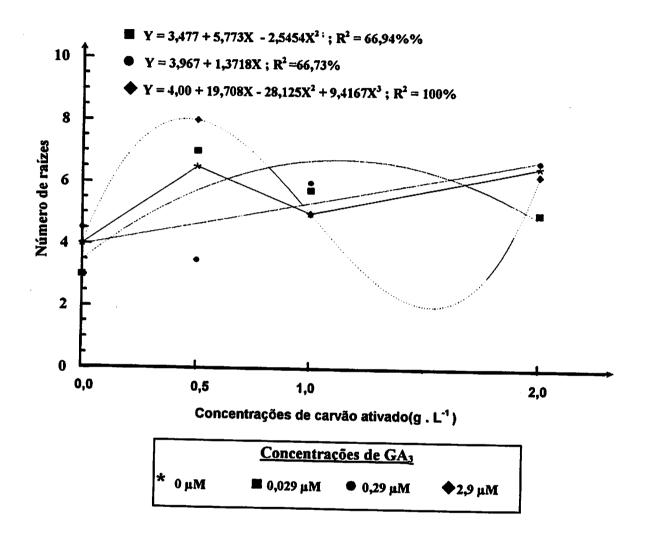


FIGURA 7. Efeito de diferentes concentrações de carvão ativado dentro de GA<sub>3</sub> sobre o número de raízes produzida *in vitro* a partir de embriões imaturos de *Jatropha podagrica* Hook. UFLA, Lavras/MG. 1995.

GA<sub>3</sub> e carvão ativado influencíam no IVG de embriões e número de raízes de embriões imaturos de *Jatropha podagrica* Hook *in vitro*.

O IVG de embriões foi maior para a concentração de 1 g.L<sup>-1</sup> de carvão ativado e na concentração de 2,9 μM de GA<sub>3</sub> e para a concentração 0,029 μM de GA<sub>3</sub> a melhor concentração de carvão ativado foi 2 g.L<sup>-1</sup>..

O número de raízes foi maior na concentração de 0,5 g.L $^{-1}$  de carvão ativado e 2,9  $\mu M$  de GA3.

A menor porcentagem de germinação ocorreu na concentração de 0,29  $\mu M$  de GA $_3$  .

Constatou-se 2,4 a 4,4 cm para a variável altura de plantas, apesar de não verificar diferenças significativas entre os tratamentos.

#### **5 EXPERIMENTO II**

(Influência da sacarose sobre a germinação de embriões imaturos de Jatropha podagrica Hook in vitro).

## 5.1 Marerial e métodos

Os frutos foram retirados de uma planta matriz quando o embrião já apresentava-se com 2 coliledones e com cerca de 0,2 a 0,5 cm de comprimento, visando facilitar a manipulação destes embriões em condições *in vitro*. No laboratório, foram retiradas as demais estruturas do fruto, permanecendo somente os cotiledones e o embrião. Em seguida, este material foi submerso em hipoclorito de sódio 1 % durante 20 minutos e posteriormente submetido a 3 lavagens sucessivas em câmara de fluxo laminar empregando-se água destilada e autoclavada.

O meio de cultura básico utilizado foi o de Murashige e Skoog (1962) (Quadro 1A, Anexos) acrescido de diferentes concentrações de sacarose (0; 15; 30; 60 e 120 g.L<sup>-1</sup>) e 1 g.L<sup>-1</sup> de carvão ativado. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 4 repetições, 3 parcelas por repetição e 1 explante por tubo de ensaio. O experimento foi avaliado aos 45 dias após a instalação, observando-se a altura de plantas na inserção da primeira folha e o número de raízes.

## 5.2 Resultados e Discussão

Na Tabela 2 encontram-se resumidos os resultados da análise de variância para altura de plantas e número de raízes dentro das diferentes concentrações de sacarose. Verificaram-se diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade para ambas variáveis.

TABELA 2. Resumo da análise de variância para a altura de plantas e número de raízes em função das diferentes concentrações de sacarose. UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Causa da variação |      | Quadrados médios e significân |              |  |
|-------------------|------|-------------------------------|--------------|--|
|                   | G.L. | Altura de plantas             | N° de raizes |  |
| Sacarose          | 4    | 8,3555 **                     | 15,3342 **   |  |
| Residuo           | 15   | 0,6894                        | 0,6828       |  |
| CV (%)            |      | 37,66                         | 24,52%       |  |

<sup>\*\* -</sup> Significativo ao nível de 1% de probabilidade

A maior altura de plantas para as diferentes concentrações de sacarose foi obtida quando utilizou-se a concentração de 30 g.L<sup>-1</sup>, e em concentrações maiores houve diminuição(Figura 8).O que concorda com resultados encontrados por Grattapaglia e Machado (1990), em que concentrações entre 20 a 40 g.L<sup>-1</sup> de sacarose apresentaram efeito benéfico sobre o desenvolvimento de plântulas. Abaixo desta faixa, pode ocorrer clorose generalizada na cultura e acima dela, pode gerar um abaixamento no potencial osmótico do meio, como consequência deterioração da cultura. O número de raízes foi crescente até a concentração de 60 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, e acima desta houve tendência de diminuir (Figura 9), o que está de acordo com George e Sherrington (1984) que constataram que concentrações elevadas de açúcares podem inibir a formação de raízes.

Em concentrações baixas de sacarose (0 a 30 g.L<sup>-1</sup>), observou-se um crescimento reduzido das plantas e também menor número de raízes. Estes resultados mostram que a sacarose no meio de cultura é essencial ao desenvolvimento *in vitro*.

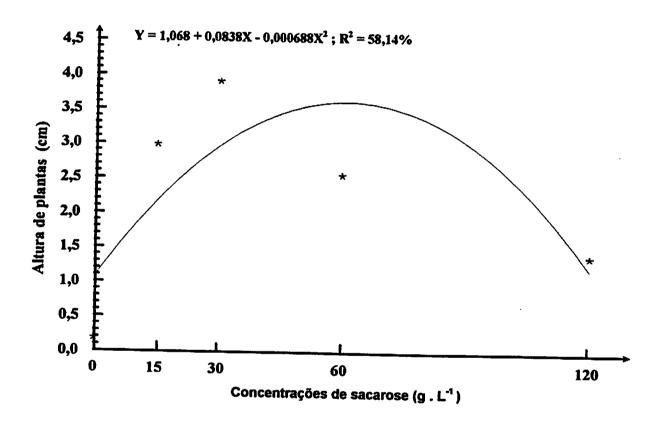


FIGURA 8. Efeito de diferentes concentrações de sacarose sobre a altura de plantas provenientes de embriões imaturos de *Jatropha podagrica* Hook *in vitro*. UFLA, Lavras/MG. 1995.

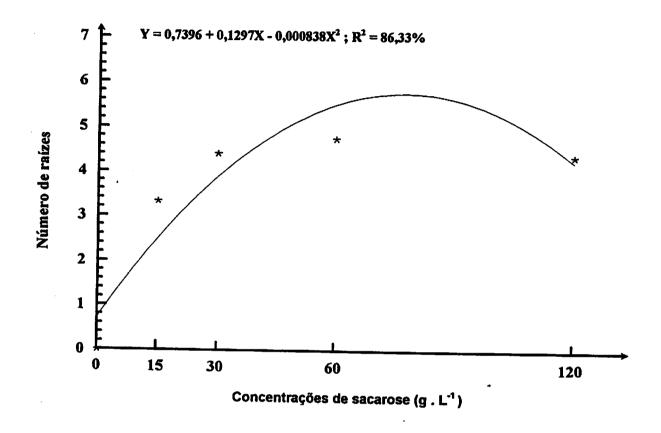


FIGURA 9. Efeito de diferentes concentrações de sacarose sobre o número de raízes de plantas provenientes de embriões imaturos de *Jatropha podagrica* Hook *in vitro*. UFLA, Lavras/MG. 1995

Sacarose promoveu aumentos nas características altura de plantas e número de raízes. Plantas mais desenvolvidas são obtidas com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, sendo o maior número de raízes obtido na concentração de 60 g.L<sup>-1</sup>.

#### 6 EXPERIMENTO III

(Efeito de diferentes concentrações de cinetina e 2,4D sobre calos apartir de raízes, folhas e caules de *Jatropha podagrica* Hook in vitro).

## 6.1 Material e métodos

As folhas, caule e raízes utilizados como explantes foram obtidas de plantas produzidas *in vitro* de *Jatropha podagrica* Hook. O meio de cultura básico utilizado foi o de Murashige e Skoog (1962) (Quadro 1A, Anexos) acrecido de diferentes concentrações de 2,4D (0; 4,5, 9,1 e 18,1 μM) e cinetina (0; 0,46 e 4,6μM).

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com 12 tratamentos, 4 repetições, 3 frascos por parcela e 3 explantes por frasco. O experimento foi avaliado aos 45 dias após a instalação, atráves do peso dos calos.

## 6.2 Resultados e Discussão

A Tabela 3 resume a análise de variância, mostrando o comportamento da variável peso de calos provenientes de raízes, onde ocorreram diferenças significativas a nível de 1% de probabilidade para 2,4D e cinetina, bem como a interação entre eles. A Tabela 4 resume a análise de variância, mostrando o comportamento da variável peso de calos provenientes de folhas de *J. podagrica* Hook onde houve diferença significativa para 2,4D a nível de 1% de probabilidade e ao nível de 5% de probabilidade para a interação entre 2,4D e

cinetina. A Tabela 5 resume a análise de variância, mostrando o comportamento da variável peso de calos provenientes de caule de *J. podagrica* Hook, onde não foram verificadas diferenças significativas entre os diversos tratamentos. Entretanto todos produziram uma quantidade considerável de calos, confirmando o experimento anterior, onde observou-se que a *J. podagrica* Hook tem uma grande facilidade de produzir calos.

TABELA 3. Resumo da análise de variância para peso de calos (g) provenientes de raízes de Jatropha podagrica Hook, para as concentrações de cinetina e 2,4D. UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Causas da variação | G.L. | Quadrados médios e significância<br>Peso de calos |
|--------------------|------|---|
| 2,4D               | 3    | 150,687 **  |
| Cinetina           | 2.   | 79,8563 **  |
| 2,4D x Cinetina    | 6    | 96,5143 **  |
| Residuo            | 23   | 11,8257   |
| CV (%)             |      | 53,87   |

<sup>\*\*</sup> Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

TABELA 4. Resumo das análise de variância para peso de calos (g) provenientes de folhas de Jatropha podagrica Hook para as concentrações de cinetina e 2,4D. UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Causas da variação                 | G.L.        | Quadrados medios e significância<br>Peso de calos |
|------------------------------------|-------------|---|
| 2,4D                               | 3           | 201,5765 **                                       |
| Cinetina                           | 2           | 7,1018  |
| 2,4D x Cinetina                    | 6           | 40,2032 *   |
| Resíduo                            | 21          | 14,0087   |
| CV (%)                             |             | 55,34   |
| ** Significative as pivel de 10/ d | 1 1 111 1 1 | ,   |

<sup>\*\*</sup> Significativo ao nível de 1% de probabilidade

<sup>Significativo ao nível de 5% de probabilidade</sup> 

TABELA 5. Resumo da análise de variância peso de calos (g) proveniente de caules de Jatropha podagrica Hook para as concentrações de cinetina e 2,4D. UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Causas da variação | G.L. | Quadrados médios e significância<br>Peso de calos |
|--------------------|------|---|
| 2,4D               | 3    | 74,8259   |
| Cinetina           | 2    | 21,9344   |
| 2,4D x Cinetina    | 6    | 5,0081  |
| Residuo            | 24   | 32,9797   |
| CV (%)             |      | 123,65  |

<sup>\*\*</sup> Significativo ao nível de 1% de probabilidade

A Figura 10 mostra que a melhor concentração de 2,4D foi 4,5 μM independente da concentração de cinetina, e a concentração de 9,1 μM de 2,4D respondeu de forma linear em função dos concentrações de cinetina. Para a concentração de 9,1 e 18,1 μM de 2,4D observou-se uma diminuição do peso de calos em relação as outras concentrações de 2,4D.

Na Figura 11 verificou-se um maior peso de calos nas concentrações de 0 e 0,46 μM de cinetina e a concentração de 4,5 μM de 2,4D. Para a concentração de 4,6 μM de cinetina a melhor concentração de 2,4D foi 9,1 μM, concordando com De Paula et al (1990) que mostrou que 2,4D e cinetina influenciam na produção de calos.

A Figura 12 mostra um maior peso de calos provenientes de raízes na concentração 4,5 μM de 2,4D e 4,6 μM de cinetina. O peso dos calos nas concentrações de 0 a 9,1 μM de 2,4D para a concentração de 4,6 μM de cinetina apresenta um aumento bastante significativo, nas concentrações de 9,1 a 18,1 μM o peso de calos provenientes de raízes diminuiu bastante tendendo a zero, o que concorda com dados de Khosh-Khui e Sink (1982) e

<sup>\*</sup> Significativo ao nível de 5% de probabilidade

De Paula et al (1990) que afirmam que 2,4D e cinetina respondem consideravelmente bem na produção de calos.

Na Figura 13, nota-se que para a concentração 0 μM de 2,4D houve uma diminuição do peso de calos provenientes de raízes com o aumento das concentrações de cinetina. Por outro lado, as concentrações de 4,5 e 9,1 μM de 2,4D houve um crescimento linear para as diferentes concentrações de cinetina. A concentração de 18,1 μM de 2,4D não houve influência dos diferentes concentrações de cinetina, podendo isso ter ocorrido devido a alta concentração de 2,4D empregada.

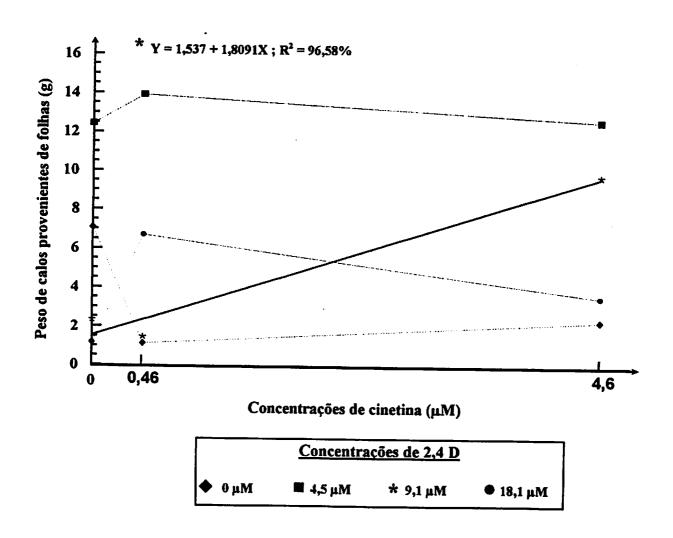


FIGURA 10. Efeito de diferentes concentrações de cinetina dentro de 2,4D sobre o peso de calos provenientes de folhas de *Jatropha podagrica* Hook *in vitro*. UFLA, Lavras/MG. 1995.

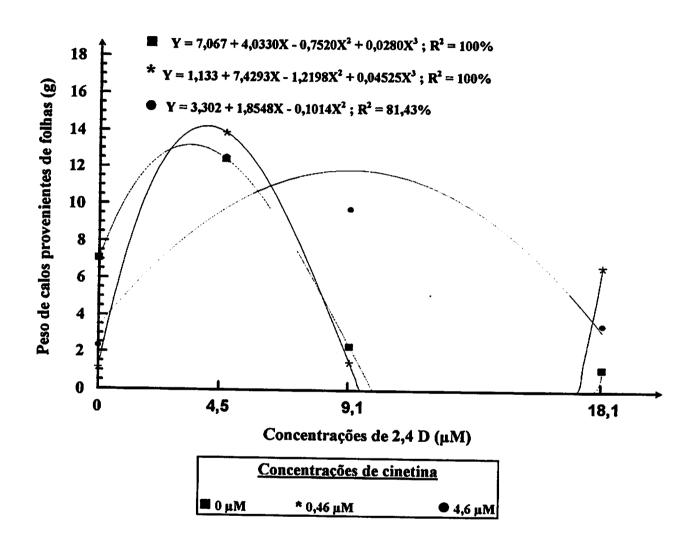


FIGURA 11. Efeito de diferentes concentrações de 2,4D dentro de cinetina sobre o peso de calos provenientes de folhas de *Jatropha podagrica* Hook *in vitro*. UFLA, Lavras/MG. 1995.

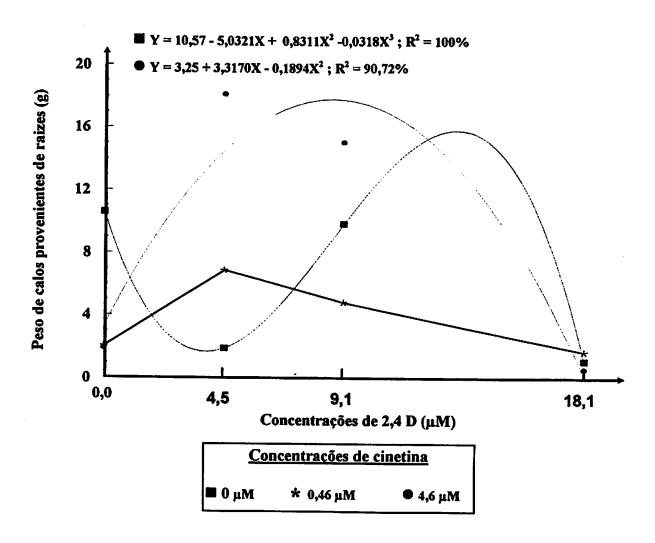


FIGURA 12. Efeito de diferentes concentrações de 2,4D dentro de cinetina sobre o peso de calos provenientes de raízes de *Jatropha podagrica* Hook, produzidos *in vitro*. UFLA, Lavras/MG. 1995.

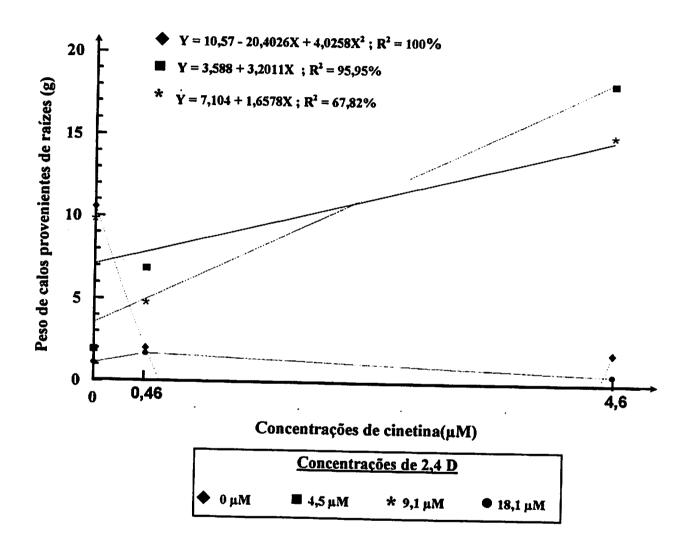


FIGURA 13. Efeito de diferentes concentrações de cinetina dentro de 2,4D sobre o peso de calos provenientes de raízes de *Jatropha podagrica* Hook, produzidos *in vitro*.UFLA, Lavras/MG. 1995.

O 2,4D interagiu com a cinetina na proliferação de calos provinientes de folhas e raízes, fato que não aconteceu para calos provenientes de caules.

Para a concentração de 9,1 μM de 2,4D houve um crescimento continuo no tamanho de calos provenientes de folhas na medida em que se elevou a concentração de cinetina. Independente da concentração de cinetina o melhor resultado para peso de calos provenientes de folhas ocorreu na concentração de 4,5 μM de 2,4D.

Na concentração de 4,6 μM de cinetina maior peso de calos proveniente de raiz foi observado à 9,1 μM de 2,4D. Independente da concentração de cinetina utilizada houve um crescimento linear para peso de calos provenientes de raízes nas concentrações de 4,5 e 9,1 μM de 2,4D, não havendo no entanto, influência da cinetina e 2,4D sobre peso de calos provenientes de caules.

#### 7 EXPERIMENTO IV

(Efeito de diferentes concentrações de BAP e ANA sobre ápices caulinares de *Jatropha podagrica* Hook *in vitro*).

#### 7.1 Material e métodos

Os ápices caulinares foram resultantes de plantas de *Jatropha podagrica* Hook produzidas *in vitro* O meio de cultura básico utilizado foi o de Murashige e Skoog (1962) (Quadro 1A, Anexo) acrescido de diferentes concentrações de ANA (0,0, 0,54µM) e BAP (0; 2,2; 4,4; 8,9 e 17,8µM).

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 10 tratamentos, 4 repetições, 3 tubos por parcela e 1 explante por tubo. O experimento foi avaliado aos 45 dias após a instalação observando-se o número de gemas formadas, altura de plantas e o tamanho de calos.

#### 7.2 Resultados e discussão

Na Tabela 6, encontram-se resumidos os resultados da análise de variância para número de gemas, altura de plantas e tamanho de calos dentro das diferentes concentrações de ANA e BAP. Verificaram-se diferenças ao nível de 5% de probabilidade para número de gemas nas diferentes concentrações de BAP e ANA empregadas; enquanto para tamanho de calos as diferenças foram ao nível de 1% de probabilidade tanto para BAP quanto para ANA, não foram

verificadas diferenças para altura de plantas. Todavia, não foram observadas nenhuma diferença entre as variáveis avaliadas.

TABELA 6. Resumo da análise de variância para número de gemas, altura de plantas (cm) e tamanho de calos (cm) de *Jatropha podagrica* Hook nas diferentes concentrações de BAP e ANA .UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Causas de | G.L. |             |                                |                  |
|-----------|------|-------------|--------------------------------|------------------|
| variação  |      | Nº de gemas | Quadrados médios Altura planta | Tamanho de calos |
| BAP       | 4    | 6,5466*     | 0,1486                         | 1,0124**         |
| ANA       | 1    | 9,5062*     | 0,1822                         | 2,4601**         |
| BAP x ANA | 4    | 1,0219      | 0,4903                         | 0,2611           |
| Residuo   | 30   | 1,6406      | 0,2849                         | 0,1673           |
| CV (%)    |      | 36,22       | 20,94                          | 33,45            |

<sup>\*\*</sup> Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

O uso de ANA promoveu aumento tanto para número de gemas quanto para peso de calos.

Na Figura 14, verifica-se que o tamanho de calos foi crescente até a concentração de 8,9 μM de BAP, registrando-se uma tendência de queda em concentrações mais altas, o que está de acordo com Grattapaglia e Machado (1990) os quais mostraram que o BAP apresenta bons resultados, porem em concentrações excessivas, pode ser tóxico.

Para número de gemas (Figura 15), observou-se um acréscimo nas concentrações de 2,2 a 8,9 μM de BAP, e acima desta concentração a tendência foi diminuir o

<sup>\*</sup> Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

número de gemas, concordando com Avramis; Hugard e Janard (1982) os quais afirmam que na concentração de 8,9μM de BAP, múltiplas hastes são produzidas. Todavia, Grattapaglia e Machado (1990) afirmam que o BAP em concentrações excessivas pode ser tóxico.

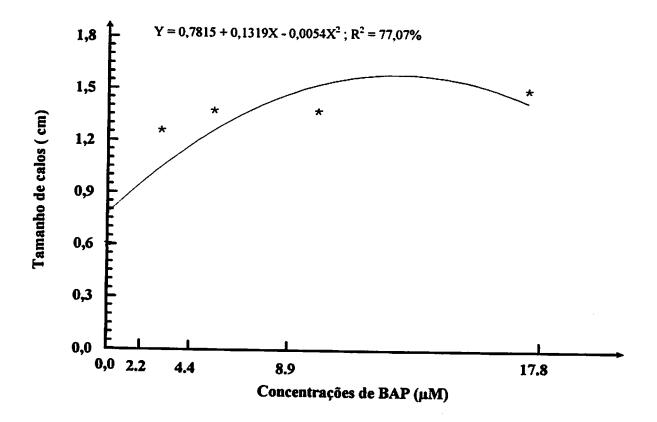


FIGURA 14. Efeitos de diferentes concentrações de BAP sobre o tamanho de calos provenientes de ápices caulinares de *Jatropha padagrica* Hook *in vitro*. UFLA, Lavras/MG. 1995.

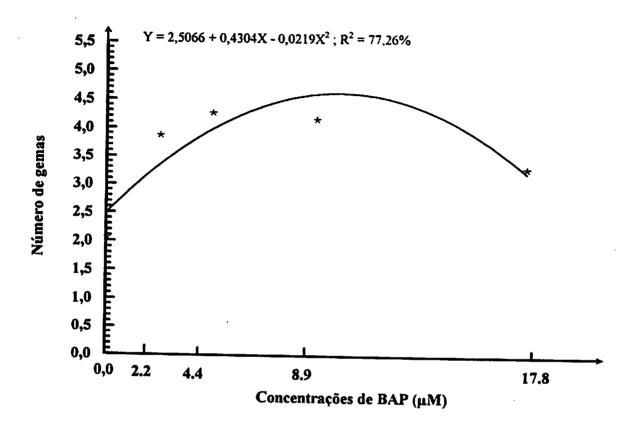


FIGURA 15. Efeito de diferentes concentrações de BAP sobre o número de gemas provenientes de ápices caulinares de *Jatropha podagrica* Hook *in vitro*. UFLA, Lavras/MG. 1995.

Tanto o número de gemas quanto o peso de calos foram estimulados pelo uso de ANA. Calos maiores foram obtidos com 17,8 μM de BAP e maior número de gemas com 4,4 μM de BAP. Altura de plantas não foi influenciada pela adição de BAP e ANA no meio de cultivo.

#### 8 EXPERIMENTO V

(Efeito de diferentes concentrações de BAP e ANA sobre folhas de *Jatropha podagrica* Hook in vitro).

#### 8.1 Material e métodos

As folhas foram obtidas de plantas de *Jatropha podagrica* Hook produzidas *in vitro*. O meio de cultura básico utilizado foi o de Murashige e Skoog, (1962) (Quadro 1A, anexos), acrescido de diferentes concentrações de ANA (0; 0,05 e 0,54 μM) e BAP (0, 2,2; 4,4; 8,9 e 17,8 μM).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 16 tratamentos, 4 repetições e 3 tubos por parcela e 1 explante por tubo. O experimento foi avaliado aos 45 dias após a instalação, observando-se número de brotos e tamanho de calos.

## 8.2 Resultados e Discussão

Na Tabela 7, encontram-se resumidos os resultados da análise de variância para número de brotos e tamanho de calos dentro das diferentes concentrações de BAP e ANA. Verificaram-se diferenças ao nivel de 1% de probabilidade para ambos os fatores e na interação tanto para tamanho de calos como para número de brotos.

TABELA 7. Resumo da análise de variância para tamanho de calos (cm) e número de brotos de Jatropha podagrica Hook em função das concentrações de BAP e ANA.

UFLA, Lavras/MG. 1995.

| CATTO A D A CATTO A D A |             | QUADRADOS MÉDIOS E SIGNIFICÂNCIA |                |
|-------------------------|-------------|----------------------------------|----------------|
| CAUSA DA VARIAÇÃO       | <u>G.L.</u> | Tamanho de calos 1/              | N° de brotos 2 |
| BAP                     | 4           | 0,1829**                         | 0,2054**       |
| ANA                     | 2           | 0,1765**                         | 0,2786**       |
| BAP x ANA               | 8           | 0,0894**                         | 0,2839**       |
| Residuo                 | 45          | 0,013                            | 0,0500         |
| CV (%)                  |             | 11,57                            | 30,29          |

<sup>1/</sup> Dados transformados segundo raiz (x + 0,5).

Na Figura 16, verifica-se que para a concentração de 17,8μM de BAP, quanto maior a concentração de ANA, maior foi o número de brotos, e nas concentrações de 0 a 8,9μM de BAP não foram observadas diferenças para as diferentes concentrações de ANA, mesmo quando se obteve o maior número de brotos. Estes valores foram bastante pequenos concordando, no entanto com Zhang, Stoltz e Snyder (1987) que ao estudarem a *Euphorbia fulgens* obtiveram resultados similares com o uso de BAP, entretanto, registraram bons resultados quando usaram Zeatina.

Nas concentrações de 4,4 e 8,9 μM de BAP ocorreu pequeno aumento no tamanho de calos com a elevação das concentrações de ANA, porém ,na concentração de 17,8 μM de BAP, o melhor resultado foi verificado com 0,05μM de ANA (Figura 17).

<sup>2/</sup> Dados transformados segundo raiz (x + 0.4).

<sup>\*\*</sup> Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

O maior número de brotos foi registrado na concentração de 17,8 µM de BAP e na ausência de ANA (Figura 18), sendo insignificantes as respostas apresentadas pelas demais concentrações tanto de BAP quanto de ANA.

Na (Figura 19), observa-se que o tamanho de calos teve os melhores resultados na presença de 0,54 μM de ANA a melhor concentração de BAP foi 8,9 μM, mas para a concentração de 0,05 μM de ANA ocorreu um aumento contínuo do tamanho dentro das concentrações de BAP na faixa de 2,2 a 17,8 μM.

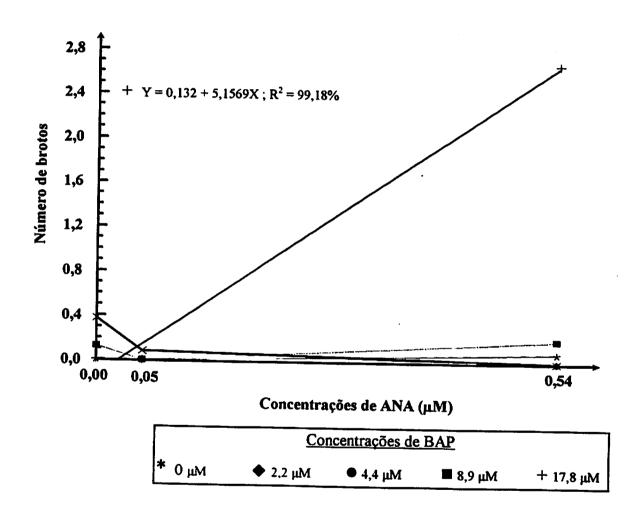


FIGURA 16. Efeito de diferentes concentrações de ANA dentro de BAP sobre o número de brotos provenientes de folhas de *Jatropha padagrica* Hook *in vitro*. UFLA, Lavras/MG. 1995.

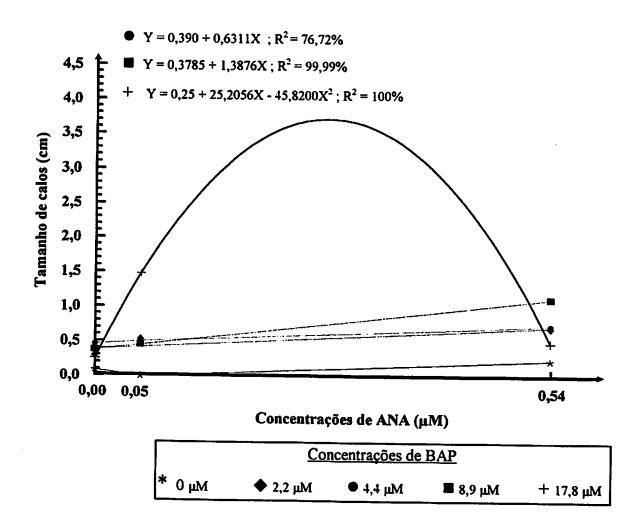


FIGURA 17. Efeito de diferentes concentrações de ANA dentro de BAP sobre o tamanho de calos provenientes de folhas de *Jatropha podagrica* Hook *in vitro*. UFLA, Lavras/MG. 1995.

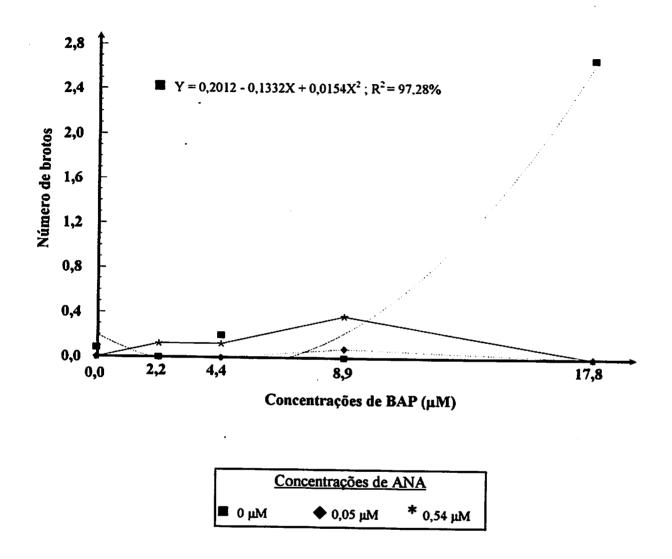


FIGURA 18. Efeito de diferentes concentrações de BAP dentro de ANA sobre o número de brotos provenientes de folhas de *Jatropha padagrica* Hook *in vitro*. UFLA, Lavras/MG. 1995.

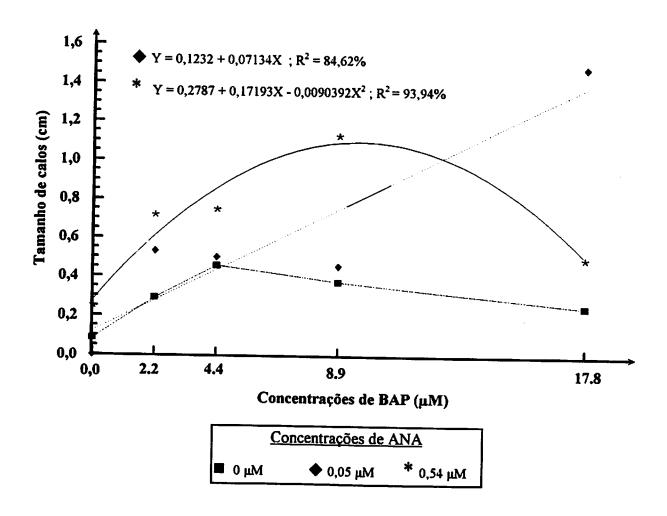


FIGURA 19. Efeito de diferentes concentrações de BAP dentro de ANA sobre o tamanho de calos provenientes de folhas de *Jatropha padagrica* Hook *in vitro*. UFLA, Lavras/MG. 1995.

As características número de brotos e tamanho de calos responderam positivamente aos tratamentos interativos de BAP e ANA. O número de brotos apresentou crescimento linear sob ação de 17,8 μM de BAP e em concentrações crescentes de ANA. Houve incremento no tamanho de calos nas concentrações de BAP (0,0 a 17,8 μM), a medida que se aumentou a concentração de ANA.

O número de brotos produzidos neste experimento em média foi inferior 1 broto por explante, apesar das diferenças registradas entre os tratamentos.

# 9 ACLIMATIZAÇÃO

Plântulas de *Jatropha podagrica* Hook produzidas *in vitro* foram transferidas para casa de vegetação, em recipientes contendo substrato Plantmax permanecendo 15 dias sob nebulização intermitente, à uma temperatura em torno de 25°C e umidade relativa do ar de 90%. A taxa de sobrevivencia foi de 16%, pois constatou-se que as plântulas não suportaram as condições da casa de vegetação, apresentando podridões de raízes e senescendo logo após o transplante.

Numa segunda tentativa, seguindo desta vez metodologia de Zhang, Stultz e Snyder (1987), em trabalho com *Euphorbia fulgens*, mantendo as plântulas por 6 dias sob nebulização intermitente, seguidos por 6 dias sem nebulização em sombreamento parcial e então transferidas para condições de viveiro, registrando-se uma sobrevivência de 70%.

# 10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEWUNMI, C.O.; ODEBIYI, D.D. *In vitro* schistosomicidal ativity of tetramethylpyrazine from *Jatropha podagrica* Hook stem back. **International Journal of Crude Drug.** Research, Berwyn, v.23, n.3, p.99-120, 1985.
- ADOLF, W.; OPFERKUCH, H.J.; HECKER, E. Irritant phorbol derivatives from four *Jatropha* species. Phytochemistry, V.23, n.1, p.129-132, 1984. In: **HORTICULTURAL ABSTRACTS**, Farnhan Royal, V.54, n.6, p.385, June 1984. (Abst. 3986).
- AVRAMIS, R.; HUGARD, D.J.; JONARD, R. Increased rooting potencial of *in vitro* propagated rose shoots by soaking them in mineral solutions with or without sucrose and NAA before direct planting in horticultural substrate. **Comptes Rendus des Sciances de L'Academic des Sciences**, Bucarest, v. 294, n. 3, p. 679-682, 1982.
- BARBOSA, M.H.P.; PASQUAL, M.; PINTO, J.E.B.P.; ARELLO, E.F.; BARROS, J. de. Efeitos da benzilaminopurina e ácido indol-3-acético sobre a propagação in vitro de Gerbera Jamesonii Bolus ex-Hook cv. Appelbloesen. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasilia, v.28. n.1, p.15-19, 1993.
- BINI, G.; LEVA, A.R.C.; VICESE, F.P. Studies on micropropagation of roses. Rivista della Ortoflorofruticoltura Italiana, Florence, v.67, n.1, p.1-3, 1983.
- BLAKSLEY, D. CONSTANTINE, D. Uptake and metabolism of 6-benziladenine in shoot cultures of a range of species. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. Dordrecht, v.28, p.183-186, 1993.
- BONIN, V. Obtenção e multiplicação in vitro de batateiras (Solanum tuberosum L.) isentas de vírus y (PVY). Viçosa: UFV, 1988. 68p. (Dissertação Mestrado em Fitotecnia).
- CASTRO, C.E.F; MINAMI, K. Floricultura no Brasil: situação atual e perspectiva. Revista ADELQ, Piracicaba, n.9, p.30-33, 1988.
- DE PAULA, M.A.; PINTO, J.E.B.P.; SIQUEIRA, J.O.; PASQUAL, M. Obtenção de calus e suspensão de células de diferentes espécies vegetais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasilia, v.25, n.4/6, p.889-895, 1990.
- DEVIIN, R.M.; WITHAN, F.H. Plant Physiology. 4th ed. Belmont: Wads worth Pub. Comp. 1983. 577p.

- FERNANDES, M.I.B.M. Perspectivas de biotecnologia para o melhoramento de plantas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.22, n.9/10, p.881-896, set/out. 1987.
- FORNI-MARTINS, E.R.; CRUZ, N.D. da. Pesquisa em desenvolvimento com pinhão-paraguaio no Instituto Agronômico. O Agronômico, Campinas, v.37, n.2, p.109-113, 1985.
- GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. Plant propagation by tissue-culture: Handbook and directory of commercial laboratories. Eversty, Exegetics. 1984. 593p.
- GRATTAPAGLIA, P.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas. Brasilia; ABCTP/EMBRAPA-CNPH, 1990. p.89-169.
- GUARDNER, F.P.; PEARCE, R.B.; MITCHELL, R. Physiology of Crop Plants. Ames: Iowa St. University Press, 1985. p.
- GUIA RURAL ABRIL. As culturas de A até Z. São Paulo: Abril, 1986. p.249-385.
- HASEGAWA, P. M. in vitro propagation of rose. HortScience, v. 14, n. 5, p. 610-612, 1980.
- HOFFMANN, A; ANTUNES, L.E.C.; OLIVEIRA JÚNIOR, A.F.De. Aclimatização de plantas frutíferas propagadas por cultivo in vitro. Lavras, UFLA, 1995 25p (Revisão apresentada à disciplina DAG 528 de propagação de frutíferas).
- HU, C.Y.; FERREIRA, A.C. Cultura de embriões. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas. Brasília; ABCTP, EMBRAPA-CNPH, 1990, P.99-169.
- KHOSH-KHUI, M.; SINK, K.C. Callus induction and culture of Rosa. Scientia Horticulturae, Amsterdam, . v.17, n.4, p.361-470, 1982.
- LA MOTTE, C.E. Plant growth regulation. Roles of hormones and environment. Ames: Iowa St. University Press, 1984. p.
- LANGHE, E.de; DEBERGH, P.; VAN RIJK, R. In vitro culture as a method for vegetative propagation of Euphorbia pulcherrima. Zeitung Pflanzen physiologie Bd., v.71, p.271-274, 1974.
- MALAURE, R.S.; BARCLAY, G.; POWER, J.B.; DAVEY, M.R. The production of novel plants from florests of *Chrysamthemun merifolium* using tissue culture. I. Shoot regeneration from ray florests and somaclonal variation exhibited by regenered plants. **Journal of Plant Physiology**, London, v.139, p.8-13, 1991.

- MATHEUS, L.A.F.; CASTRO, C.E.F.; CASTRO, J.V.; BORGAMANN, E.C.; FEITOSA, C.T. Programa integrado de pesquisa: flores e plantas ornamentais. São Paulo: S.A.A./C.P.A., 1985, 28p.
- MUNCH, E.; KIEFER, J.F. Purging nut (Jatropha curcas L.) multiple use plant as a source of fuel in the future? Schriftenreihe der Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit Gmbh, Eschborn, n.209. p.1-32, 1989.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- NICKELL, L.G. Plant growth substances. Encyclopedia of Chemical Technology, v.18, 3. ed. p.1-23, 1982.
- ODEBIYI, O.O. Antibacterial property of tetramethypyrazine from the stem of Jatropha podagrica. Planta Medica, Stuttgart, v.38, n.2, p.144-146, 1980.
- ODEBIYI, O.O. Steroids and flavonoids from *Jatropha podagrica* stem bark. Fitoterapia, Milano, v.56, n.5, p.302-303, 1985.
- OJEWOLE, J.A.O. Antibronchoconstrictor and antiarrhythmic effects of chemical compounds from Nigerian Medicinal plant. Fitoterapia, Milano, v. 54. n.4, p.153-161, 1983.
- OJEWOLE, J.A.O.; ODEBIYI, O.O. Some studies on the pharmacology of tetramethylpyrazine an alkaloid from the stem of *Jatropha podagrica*. Fitoterapia, Milano, v.55, n.4, p.213-225. 1984.
- OJEWOLE, J.A.O.; ODEBIYI, O.O. Neuromuscular and cardio vascular action of tetramethylpyrazine from the stem of Jatropha podagrica. **Planta Medica**, Stuttgart, v.38, n.4, p.332-338. 1980.
- OJEWOLE, J.A.O.; ODEBIYI, O.O. Mechanism of the hypotensive effect of tetramethylpyrazine, an amide alkaloid from the stem of *Jatropha podagrica* Planta Medica, Stuttgart, v. 41, n. 3, p. 281-287. 1981.
- OLIVEIRA, J.M.A. Óleo de pinhão: Alternativa no Nordeste. Palestra proferida no Seminário Regional sobre Conversão de Biomassa em Combustivel. São Paulo, 1979. 17p. (Datilografado).
- PAIVA RIO, R. Oleos Vegetais: Uma alternativa para o Brasil. Palestra apresentada no II Seminário sobre Biomassa como Energia na Indústria. Rio de Janeiro, 1982. 61p. (Datilografado).
- PASQUAL, M. Introdução à cultura de tecidos. Lavras: ESAL, 1990. 20p. (Apostila).

- PASQUAL, M.; BARROS, J. de. Avaliação da repetibilidade de resultados em experimentos com cultura de tecidos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasilia, v.26, n.7, p.945-948, 1991.
- PASQUAL, M.; RIBEIRO, V.G.; RAMOS, J.D. Influência do GA3 e do carvão ativado sobre o enraizamento *in vitro* de embriões de laranja Natal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasilia, v.25, n.10, p.1477-1482, 1990.
- PIERIK, R.L.M. In vitro culture of higher plants. Dordrecht. Martines Nyhoff Publ, 1987. 344p.
- PRASAD, R.N.; CHATURVEDI, C. Effect of season of collection of explants on micropropagation of *Chrysanthemum morifolium*. Biologia Plantarum, The Hagne, v.30, n.1, p.20-24, 1988.
- RESENDE, R. de O. Cultura in vitro de meristema de batata (Solamum tuberosum, L.) Lavras: ESAL, 1985. 53p. (Dissertação Mestrado em Fitotecnia).
- RIBAS, L.L.F.; ZANETTE, F. Propagação de macieira cv. Gala através da cultura de meristema. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, Brasília, v.4, n.1, p.39-43, 1992.
- RODRIGUEZ, A. An introduction to *Jatropha*. Plantsman, v.14, n.1, p.48-53, 1992. In: HORTICULTURAL ABSTRACTS, Farnhan Royal, v.63, n.6, p.545, june 1993. (Abst. 4435).
- SUJATHA, M.; DHINGRA, M. Rapid plant regeneration from various explants of *Jatropha integerrima* hypocotyl culture, shoot culture, leaf culture and peduncule culture medium optimization for oilseed ornamental plant propagation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, The Hague, V.35, n.3, p.293-96, 1993.
- SUNDAR RAO, B.K.; LAKSHMINARAYANA, G. Characteristics and composition of six newer seeds and the ir oils. Fat Science and Tecnology, n.8, p.324-326, 1987.
- VIANA, A.S. Aclimatação e poda das folhas de mudas de cafeiro visando sua adaptabilidade às condições de campo. ESAL, Lavras, 1981, 65p. (Tese de Mestrado).
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Plant physiology. Redwood city, The Benjamin/Cummings Publishing Company, 1991. 559p.
- TING, I.T. Plant Physiology. Massachussets: Addison Wesley, 1982. 642p.
- ZHANG, B.; STOLTZ, L.P. Shoot proliferation of *Euphorbia fulgens in vitro* affected by medium components. **HortScience**, Lexigton, v.24, n.3, p.503-504, 1989.
- ZHANG, B.; STOLTZ, L.P.; SNYDER, J.C. In vitro propagation of Euphorbia fulgens. HortScience, Lexington, v.22, n.3, p.486-488, 1987.

ANEXOS

QUADRO 1A. Meio MS (Murashige e Skoog, 1962). UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Componentes   | Concentrações (mM) |
|---|--------------------|
| NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>                     | 20,60              |
| KNO <sub>3</sub>                                    | 18,80              |
| CaCL <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O                | 2,99               |
| MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O                | 1,50               |
| KH₂PO₄  | 1,25               |
| MnSO <sub>4</sub> ,4H <sub>2</sub> O                | 0,1000             |
| ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O                | 0,0299             |
| $H_3BO_3$   | 0,1000             |
| KI  | 0,0050             |
| Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O | 0,0010             |
| CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O                | 0,0001             |
| CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O                | 0,0001             |
| Na <sub>2</sub> .EDTA.2H <sub>2</sub> O             | 0,1000             |
| FeSO <sub>4</sub> ,7H <sub>2</sub> O                | 0,1000             |
| Glicina   | 0,0266             |
| Ácido Nicotínico                                    | 0,0040             |
| Piridoxina HCl                                      | 0,0040             |
| Tiamina HCl   | 0,0024             |
| Miotinosital  | •                  |
| Sacarose  | 0,5500<br>87.60    |
|   | <u> </u>           |

QUADRO 2A. Médias originais de % de germinação, IVG de embriões, altura de plantas (cm) e número de raízes de *Jatropha podagrica* Hook em função das diferentes concentrações de carvão ativado (g.L<sup>-1</sup>) e GA<sub>3</sub> (μM). UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Carvão<br>ativado |                 | Explante embriões imaturos |                    |                   |                  |  |  |
|-------------------|-----------------|----------------------------|--------------------|-------------------|------------------|--|--|
|                   | GA <sub>3</sub> | %<br>germinação            | IVG de<br>embriões | Altura de plantas | Nº de raízes     |  |  |
| 0                 | 0               | 83.3000                    | 0,1896             | 3.7500            | 4.0000           |  |  |
|                   | 0,029           | 62.4750                    | 0,3643             | 2.6250            | 3.0000           |  |  |
|                   | 0,29            | 16.6500                    | 0,2143             | 2.7500            | 4.5000           |  |  |
|                   | 2,9             | 79.1500                    | 0,2250             | 2.3750            | 4.0000           |  |  |
| 0,5               | 0               | 62.4750                    | 0,2619             | 3.6250            | 6.5000           |  |  |
|                   | 0,029           | 91.6500                    | 0,1957             | 4.1875            | 7.0000           |  |  |
|                   | 0,29            | 49.9750                    | 0,2024             | 2.7500            | 3.5000           |  |  |
|                   | 2,9             | 54,1500                    | 0,1310             | 3.8333            | 8.0000           |  |  |
| 1,0               | 0               | 62,4750                    | 0,1964             | 2.8125            | 5.0000           |  |  |
|                   | 0,029           | 54.1500                    | 0,1726             | 3.8750            | 5.7500           |  |  |
|                   | 0,29            | 54.1500                    | 0,1779             | 3.4250            | 6.0000           |  |  |
|                   | 2,9             | 75.0000                    | 0,3095             | 3.3750            | 5.0000           |  |  |
| 2,0               | 0               | 62.4750                    | 0,2141             | 3.7500            | 6.5000           |  |  |
|                   | 0,029           | 66.6500                    | 0,3333             | 3.3750            | 5.0000           |  |  |
|                   | 0,29            | 62.5000                    | 0,1369             | 3.6666            | 5.0000<br>6.6675 |  |  |
|                   | 2,9             | 70.8000                    | 0,1845             | 4.3750            | 6.2500           |  |  |

QUADRO 3A. Médias originais de altura de plantas (cm) e número de raízes de *Jatropha podagrica* Hook em função das diferentes concentrações de sacarose (g.L<sup>-1</sup>).

UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Sacarose | Altura de plantas | Nº de raizes |
|----------|-------------------|--------------|
| 0        | 0,1825            | 0,0000       |
| 15       | 2.9825            | 3.3250       |
| 30       | 3.9050            | 4.4000       |
| 60       | 2.5550            | 4.7500       |
| 120      | 1,4000            | 4.3750       |

QUADRO 4A. Médias originais de peso de calos (g) de *Jatropha podagrica* Hook em função de diferentes concentrações de cinetina e 2,4-D (μM). UFLA, Lavras/MG. 1995.

| 2,4D | Cinetina     | Peso de calos | 2,4D      | Cinetina | Peso de calos  |
|------|--------------|---------------|-----------|----------|----------------|
|      |              | Provenientes  | de raízes |          |                |
| 0    | 0            | 10.5667       | 9,3       | 0        | 9.8333         |
|      | 0,46         | 2.0333        | •         | 0,45     | 4.8333         |
|      | 4,6          | 1.9000        |           | 4,5      | 15.0333        |
| 4.5  | 0            | 1.9067        | 18,6      | 0        | 1.1000         |
|      | 0,46         | 6.8667        | 7 -       | 0,45     | 1.7000         |
|      | 4,6          | 18.1000       |           | 4,5      | 0.6000         |
| 2,4D | Cinetina     | Peso de calos | 2,4D      | Cinetina | Peso de calos  |
|      | <del>-</del> | Provenientes  |           |          | 1 050 00 00103 |
| 0    | 0            | 7.0667        | 9.3       | 0        | 2.3333         |
|      | 0,46         | 1.1333        |           | 0,45     | 1.4667         |
|      | 4,6          | 2.3333        |           | 4,5      | 9.7667         |
| 4,5  | 0            | 12.4333       | 10.6      | _        |                |
| -,-  | 0,46         | 13.9000       | 18,6      | 0        | 1.1667         |
|      | 4,6          |               |           | 0,45     | 6.7000         |
| 2,4D | Cinetina     | 12.5667       | <u> </u>  | 4,5      | 3.5333         |
| 2,10 | Cinetina     | Peso de calos | 2,4D      | Cinetina | Peso de calos  |
| 0    | ^            | Provenientes  |           |          |                |
| O    | 0            | 0.3333        | 9,3       | 0        | 7.0000         |
|      | 0,46         | 0.5000        |           | 0,45     | 3.6333         |
|      | 4,6          | 0 6666        |           | 4,5      | 6.8333         |
| 4,5  | 0            | 8 8000        | 18,6      | 0        | 5 6000         |
|      | 0,46         | 3 8000        | 10,0      |          | 5.6000         |
|      | 4,6          | 8 7666        |           | 0,45     | 4.4000         |
|      |              | 3 , 000       |           | 4,5      | 5.4000         |

QUADRO 5A. Médias originais de número de gemas, altura de plantas (cm) e tamanho de calos (cm) de *Jatropha podagrica* Hook nos diferentes concentrações de BAP e ANA. UFLA, Lavras/MG. 1995.

|          |          | Ex          | plantes ápices caulina | res                   |
|----------|----------|-------------|------------------------|-----------------------|
| BAP (μM) | ANA (μM) | N° de gemas | Altura de plantas      | Tamanho de calos (cm) |
| 0        | 0        | 1.1650      | 2.1100                 | 0.2100                |
|          | 0,54     | 2.9575      | 2.5550                 | 1.0000                |
| 2,2      | 0        | 3.2475      | 2.7300                 | 1.2700                |
|          | 0,54     | 4.5000      | 2.5000                 | 1.2500                |
| 4,4      | 0        | 4.2075      | 2.6250                 | 1.2075                |
|          | 0,54     | 4.3325      | 2.4000                 | 1.5425                |
| 8,9      | 0        | 4.0000      | 2.1700                 | 1.1250                |
|          | 0,54     | 4.3300      | 3.0300                 | 1.6250                |
| 17,8     | o        | 2.6250      | 2.7750                 | 1.0625                |
|          | 0,54     | 4.0000      | 2.6000                 | 1.9375                |

QUADRO 6A. Médias originais de tamanho de calos (cm) e número de brotos de *Jatropha* podagrica Hook nas diferentes concentrações de BAP dentro de ANA UFLA, Lavras/MG. 1995.

| BAP (μM) | ANA (μM) | Tamanho de calos | Nº de brotos |
|----------|----------|------------------|--------------|
| 0        | 0        | 0,0850           | 0,0000       |
|          | 0,05     | 0,000            | 0,0000       |
|          | 0,54     | 0,2500           | 0,0825       |
| 2,2      | 0        | 0,2925           | 0,1250       |
|          | 0,05     | 0,5325           | 0,0000       |
|          | 0,54     | 0,7200           | 0,0000       |
| 4,4      | 0        | 0,4575           | 0,1250       |
|          | 0,05     | 0,5025           | 0,0000       |
|          | 0,54     | 0,7500           | 0,2000       |
| 8,9      | 0        | 0,3750           | 0,3750       |
|          | 0,05     | 0,4575           | 0,0885       |
|          | 0,54     | 1,1275           | 0,0000       |
| 17,8     | 0        | 0,2500           | 0,0000       |
|          | 0,05     | 1,4775           | 0,0000       |
|          | 0,54     | 0,5000           | 2,6675       |

APÊNDICES

## SUMÁRIO

| Quadro |  | Página |
|--------|--|--------|
| 1B     | Resumo da análise de variância e regressão para germinação (%), IVG de embriões, altura de plantas (cm) e número de raízes de <i>Jatropha padagrica</i> Hook nas diferentes concentrações do carvão ativado (g/l) e GA <sub>3</sub> (μM). UFLA, Lavras/MG 1995 | 69     |
| 2B     | Resumo da análise da variância e regressão para altura de plantas e número de raizes de <i>jatropha</i> podagrica Hook em funções dos diferentes concentrações de sacarose. UFLA, Lavras/MG. 1995  | 71     |
| 3B     | Resumo da análise de variância e regressão para peso de calos (g) provenientes de caules de <i>Jotropha podragrica</i> Hook em função de concentrações de 2,4D e cinetina. UFLA, Lavras/MG. 1995   | 72     |
| 4B     | Resumo da análise de variância e regressão para peso de calos (g) provenientes de folhas de <i>Jatropha podagrica</i> Hook em função de concentrações de 2,4D cinetina. UFLA, Lavras/MG. 1995  | 73     |
| 5B     | Resumo da análise de variância e regressão para peso de calos (g) provenientes de raízes de <i>Jatropha podagrica</i> Hook em função de concentrações de 2,4D cinetina. UFLA, Lavras/MG. 1995  | 74     |
| 6B     | Resumo da análise de varância e regressão para número de gemas, altura de plantas (cm) e tamanho de calos (cm) provenientes de ápices caulinares de <i>Jatropha podagrica</i> Hook nas diferentes concentrações de BAP e ANA. UFLA, Lavras/MG. 1995            | 75     |
| 7B     | Resumo da análise de variância e regressão para tamanho de calos e número de brotos provenientes de folhas de <i>Jatropha podagrica</i> Hook nas concentrações de BAP dentro das concentrações de  |        |
|        | ANA. UFLA, Lavras/MG. 1995   | 76     |

| Quadro |  | Página |
|--------|--|--------|
| 8B     | Resumo da análise de variância e regressão para tamanho de calos e número de brotos provenientes de folhas de <i>Jatropha podagrica</i> Hook nas concentrações de BAP dentro das concentrações de ANA. UFLA, Lavras/MG. 1995 | 77     |
| 9B     | Resumo das análise de variância e regressão para tamanho de calos e número de brutos provenientes de folhas de <i>Jatropha podagrica</i> Hook para concentrações de BAP e ANA. UFLA, Lavras/MG. 1995                         | 78     |

QUADRO 1B. Resumo da análise de variância e regressão para germinação (%), IVG de embriões, altura de plantas (cm) e número de raízes de *Jatropha padagrica*Hook nas diferentes concentrações do carvão ativado (g/l) e GA<sub>3</sub> (μM).

UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Causas da                                  |           |           | Quadrados médi- | os e significânci | ia           |
|--|-----------|-----------|-----------------|-------------------|--------------|
| variância                                  | G.L.      | IVG de    | Germinação      | Altura de         | Nº de raizes |
|  |           | embriões  | %               | plantas           |              |
| GA <sub>3</sub>                            | (3)       |           |                 |                   |              |
| R. Linear                                  | 1         | 0,0017 ** | 2.2039          | 0,1450            | 0,2139       |
| R. quadr.                                  | 1         | 0,0218 ** | 28.8388**       | 0,4573            | 0,0990       |
| R. Cúbica                                  | 1         | 0,0197 ** | 0.3011          | 0,2195            | 0,0551       |
| GA <sub>3</sub> :0 g.L <sup>-1</sup> de c  | arvão     |           |                 |                   |              |
| R. Linear                                  | 1         | 0,0029 ** |                 |                   | 0,0341       |
| R Quadr.                                   | 1         | 0,0038 ** |                 |                   | 0,1963       |
| R. Cúbica                                  | 1         | 0,4919 ** |                 |                   | 0,3334       |
| GA <sub>3</sub> 0,5 g.L <sup>-1</sup> de   | carvão    |           |                 |                   |              |
| R Linear                                   | 1         | 0,0187 ** |                 |                   | 0,6894       |
| R Quadr.                                   | 1         | 0,0011 ** |                 |                   | 2,7368**     |
| R. Cúbica                                  | 1         | 0,0059 ** |                 |                   | 0,0891       |
| GA <sub>3</sub> :1 g.L <sup>-1</sup> de ca | arvão     |           |                 |                   |              |
| R. linear                                  | 1         | 0,0357 ** |                 |                   | 0,0364       |
| R. Quadr.                                  | 1         | 0,0089 ** |                 |                   | 0,0610       |
| R. Cúbica                                  | 1         | 0,0007 ** |                 |                   | 0,0425       |
| GA3:2 g.L <sup>-1</sup> de c               | arvão     |           |                 |                   |              |
| R. Linear                                  | 1         | 0,0067 ** |                 |                   | 0,0101       |
| R. Quadr                                   | 1         | 0,0293 ** |                 |                   | 0,1120       |
| R. Cúbica                                  | 1         | 0,0269 ** |                 |                   | 0,1578       |
| Carvão                                     | (3)       |           |                 |                   |              |
| R. Linear                                  | 1         | 0,0023 ** | 0,8426          | 2,0788            | 1,4085*      |
| R. Quadr.                                  | 1         | 0,0080 ** | 0,1953          | 0,8243            | 0,6442       |
| R. Cúbica                                  | 1         | 0,0058 ** | 0,4914          | 1,3703            | 0,5099       |
|  | -         | 0,000     | 0,1214          | 1,5705            | 0,3099       |
| Carvão: OµMGA                              | <b>13</b> |           |                 |                   |              |
| R. Linear                                  | 1         | 0,0060    |                 | ,                 | 0,2478       |
| R. Quadr.                                  | 1         | 0,0003    |                 |                   | 0,0714       |
| R. Cúbica                                  | 1         | 0,0829    |                 |                   | 0,4089       |
|  |           | •         |                 | Quadro IB cor     | ti           |

Quadro 1B . continua .....

QUADRO 1B. Continuação .....

| Causas de         |                 |                 | Quadrados médic | os e significânci | a            |
|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|--------------|
| variação<br>————— | G.L.            | IVG de embriões | Germinação<br>% | Altura de plantas | Nº de raízes |
| Carvão: 0,03µM    | GA <sub>3</sub> |                 |                 |                   |              |
| R. Linear         | 1               | 0,0000 **       |                 |                   | 0,2801       |
| R. Quadr.         | 1               | 0,0821 **       |                 |                   | 1,3609*      |
| R. Cúbica         | 1               | 0,0014 **       |                 |                   | 0,5933       |
| Carvão: 0,29 µM   | I GA₃           |                 |                 |                   |              |
| R. Linear         | 1               | 0,0104 **       |                 |                   | 1,0231*      |
| R. Quadr.         | I               | 0,0000 **       |                 |                   | 0,0848       |
| R. Cübica         | 1               | 0,0000 **       |                 |                   | 1,1287*      |
| Carvão: 2,9µM C   | $3A_3$          |                 |                 |                   |              |
| R. Linear         | 1               | 0,0001 *        | •               |                   | 0,1122       |
| R. Quadr.         | l               | 0,0049 **       |                 |                   | 0,1122       |
| R. Cúbica         | 1               | 1,4132 **       |                 |                   | 1,1681*      |
| Residuo           | 48              | 0,0000          | 3,5420          | 0,9149            | 0,2032       |

<sup>\*\*</sup> Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 2B. Resumo da análise da variância e regressão para altura de plantas e número de raízes de *Jatropha* podagrica Hook em funções dos diferentes concentrações de sacarose. UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Causas da          | G.L. | Quadrados médi    | os e significância |
|--------------------|------|-------------------|--------------------|
| variação           |      | Altura de plantas | Nº de raízes       |
| Regressão Linear   | 1    | 0,0743            | 24,2580**          |
| Regressão Quadrada | 1    | 19,3571**         | 28,6993**          |
| Regressão Cúbica   | 1    | 13,9867**         | 7,9720**           |
| Desvios de Regr.   | 1    | 0,0038            | 0,4135             |
| Resíduo            | 15   | 0,.6894           | 0,6828             |

<sup>\*\*</sup> Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

QUADRO 3B. Resumo da análise de variância e regressão para peso de calos (g) provenientes de caules de *Jatropha podagrica* Hook em função de concentrações de 2,4D e cinetina. UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Causas de         |      | Q. médios e significância |
|-------------------|------|---------------------------|
| variação variação | G.L. | Peso de calos             |
| 2,4D (μM)         |      |                           |
| R. Linear         | 1    | 47.4058                   |
| R. Quadr.         | 1    | 123.1252*                 |
| R. Cúbica         | 1    | 53.9466                   |
| Cinetina (µM)     |      |                           |
| R. Linear         | 1    | 7.5084                    |
| R. Quadr.         | 1    | 36.3604                   |
| Resíduo           | 24   | 32.9797                   |

<sup>\*</sup> Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 4B. Resumo da análise de variância e regressão para peso de calos (g) provenientes de folhas de *Jatropha podagrica* Hook em função de concentrações de 2,4D cinetina. UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Causas de variação                            | G.L.   | Q. médios e significância |  |
|---|--------|---------------------------|--|
|   |        | peso de calos             |  |
| 2,4D: 0μM de CIN                              |        |                           |  |
| R. Linear                                     | 1      | 117.1315**                |  |
| R. Quadr.                                     | 1      | 3.3430                    |  |
| R. Cúbica                                     | .1     | 116.7687**                |  |
| 2,4D: 0,46 μM de CIN                          |        |                           |  |
| R. Linear                                     | 1 .    | 3.1546                    |  |
| R. Quadr.                                     | i      | 13.0677                   |  |
| R. Cúbica                                     | 1      | 304.7042*                 |  |
| 2,4D: 4,6 μM de CIN                           |        | 301.7012                  |  |
| R. Linear                                     | •      |                           |  |
| R. Quadr.                                     | 1      | 3.3303                    |  |
| R. Cúbica                                     | 1      | 173.5979**                |  |
|   | 1      | 40.3550                   |  |
| CIN: 0 μM de 2,4D                             |        |                           |  |
| R. Linear                                     | 1      | 9.9088                    |  |
| R. Quadr.                                     | 1      | 49.1400                   |  |
| CIN: 4,5 µM de 2,4D                           |        |                           |  |
| R. Linear                                     | 1      | 0.4650                    |  |
| R. Quadr.                                     | 1      | 0.4650                    |  |
| •   | 4      | 3.4816                    |  |
| CIN: 9,1 µM de 2,4D                           |        |                           |  |
| R. Linear                                     | 1      | 120.6228**                |  |
| R. Quadr.                                     | 1      | 4.2726                    |  |
| CIN: 18,1 μM de 2,4D                          |        |                           |  |
| R. Linear                                     | 1      | 0.0026                    |  |
| R. Quadr.                                     | i      | 46.2439                   |  |
| 2,4D  | -      | TV.2737                   |  |
| R. Linear                                     | 1      |                           |  |
| R. Quadr.                                     | l<br>1 | 44.3212                   |  |
| R. Cúbica                                     | I<br>1 | 130.0000**                |  |
|   | ı      | 449.3061**                |  |
| CIN   |        |                           |  |
| R. Linear                                     | 1      | 14.1576                   |  |
| R. Quadr.                                     | I      | 0.0460                    |  |
| R. Cúbica                                     | 1      | 14.0087                   |  |
| Resíduo<br>** Significativo ao nível de 1% de | 21     | 14.0087                   |  |

<sup>\*\*</sup> Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 5B. Resumo da análise de variância e regressão para peso de calos (g) provenientes de raízes de *Jatropha podagrica* Hook em função de concentrações de 2,4D e cinetina. UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Causas de variação                    | G.L.        | Q. médios e significância |
|---------------------------------------|-------------|---------------------------|
| 2.40:0:14.00:                         |             | peso de calos             |
| 2,4D: 0μM de CIN                      |             |                           |
| R. Linear                             | 1           | 77.0228*                  |
| R. Quadr.                             | 1           | 0.9078                    |
| R. Cúbica                             | 1           | 150.7479**                |
| 2,4D: 0,46 μM de CIN                  |             |                           |
| R. Linear                             | 1           | 4.600                     |
| R. Quadr.                             | 1<br>· 1    | 4.6304                    |
| R. Cúbica                             | · 1         | 36.6927                   |
|                                       | 1           | 12.6459                   |
| 2,4D: 4,6 μM de CIN                   |             |                           |
| R. Linear                             | 1           | 47.6720                   |
| R. Quadr.                             | 1           | 605.9454**                |
| R. Cúbica                             | 1           | 66.8250                   |
| CIN: 0 µM de 2,4D                     |             | 00.0230                   |
| R. Linear                             | _           |                           |
| R. Quadr.                             | 1           | 51.0602*                  |
| ic Quadi.                             | . 1         | 96.8864**                 |
| CIN: 4,5 µM de 2,4D                   |             |                           |
| R. Linear                             | I           | 204 (177**                |
| R. Quadr.                             | i           | 394.6177**                |
| CDV 0.1 3.4 4                         | 4           | 18.3956                   |
| CIN: 9,1 μM de 2,4D                   |             |                           |
| R. Linear                             | 1           | 105.8540**                |
| R. Quadr.                             | 1           | 50.2259*                  |
| CIN: 18,1 µM de 2,4D                  |             | 00.2207                   |
| R. Linear                             | •           |                           |
| R. Quadr.                             | 1           | 1.1235                    |
| -                                     | 1           | 0.6964                    |
| 2,4D                                  |             |                           |
| R. Linear                             | 1           | 106.0007**                |
| R. Quadr.                             | 1           |                           |
| R. Cúbica                             | i           | 333.4060**                |
| R. Linear                             |             | 11.8257                   |
| R. Linear<br>R. Quadr.                | 1           | 120.4275**                |
| v. Yudui.                             | 1           | 34.8487                   |
| Residuo                               | 23          |                           |
| * Significativo ao nível de 1% de pro | ohahilidade | 11.8257                   |

Significativo ao nível de 1% de probabilidade. Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 6B. Resumo da análise de variância e regressão para número de gemas, altura de plantas (cm) e tamanho de calos (cm) provenientes de ápices caulinares de Jatropha podagrica Hook nas diferentes concentrações de BAP e ANA. UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Causa da                     | G.L. | Qua         | Quadrados médios e significância |                  |  |
|------------------------------|------|-------------|----------------------------------|------------------|--|
| variação variação            |      | Nº de gemas | Altura de plantas                | Tamanho de calos |  |
| BAP (µM)                     | (4)  |             |                                  |                  |  |
| R. Linear                    |      | 1,2763      | 0,3367                           | 2,0034           |  |
| R. Quadr.                    | 1    | 18,9552**   | 0,0522                           | 1,1178*          |  |
| R. Cúbica                    | 1    | 5,5271      | 0,0739                           | 0,8518           |  |
| Desvios de Regr.             | 1    | 0,4276      | 0,1318                           | 0,0766           |  |
| ANA (μM)                     | (1)  |             |                                  |                  |  |
| R. Linear                    | . 1  | 9,5062*     | 0,1822                           | 2,4601**         |  |
| Resíduo  ** Significativo ao | 30   | 1,6406      | 0,2849                           | 0,1673           |  |

Significativo ao nível de 1% de probabilidade. Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 7B. Resumo da análise de variância e regressão para tamanho de calos e número de brotos provenientes de folhas de *Jatropha podagrica* Hook nas concentrações de BAP dentro das concentrações de ANA. UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Causas de        | G.L. | Quadrados médios e significância 1/ |              |
|------------------|------|-------------------------------------|--------------|
| variação         |      | Tamanho de calos (cm)               | Nº de brotos |
| BAP: 0,0 µM ANA  | (4)  |                                     | •            |
| Regressão Linear | 1    | 0,0036                              | 0,0002       |
| Regressão Quadr. | 1    | 0,0774*                             | 0,0843       |
| Regressão Cúbica | 1    | 0,0232                              | 0,0041       |
| Desvios de Regr. | 1    | 0,0015                              | 0,0053       |
| BAP: 0,05µM ANA  | (4)  |                                     |              |
| Regressão Linear | 1    | 0,8050**                            | 0,0003       |
| Regressão Quadr. | 1    | 0,0017                              | 0,0052       |
| Regressão Cúbica | 1    | 0,1572*                             | 0,0040       |
| Desvios de Regr. | 1    | 0,1983                              | 0,0003       |
| BAP: 0,54µM ANA  | (4)  |                                     |              |
| R. Linear        | ì    | 0,0148                              | 2,2387**     |
| R. Quadr.        | 1    | 0,3158**                            | 0,6212**     |
| R. Cubica        | 1    | 0,0003                              | 0,0844       |
| Desvios de Regr. | 1    | 0,0262                              | 0,0454       |
| Resíduo          | 45   | 0,0131                              | 0,0500       |

<sup>1/</sup> Dados transformados em raiz (x + 0.4). Dados transformados em raiz (x + 0.5).

<sup>\*\*</sup> Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

<sup>\*</sup> Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 8B. Resumo da análise de variância e regressão para tamanho de calos e número de brotos provenientes de folhas de Jatropha podagrica Hook nas concentrações de BAP dentro das concentrações de ANA. UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Causas de        | G.L. | Quadrados médios e significância 1/ |              |
|------------------|------|-------------------------------------|--------------|
| variação         |      | Tamanho de calos (cm)               | N° de brotos |
| ANA: 0,0 µM BAP  | _    |                                     |              |
| Regressão Linear | 1    | 0,0379                              | 0,0081       |
| Regressão Quadr. | 1    | 0,0093                              | 0,0001       |
| ANA: 2,2μM BAP   |      |                                     |              |
| Regressão Linear | 1    | 0,0666*                             | 0,0055       |
| Regressão Quadr. | 1    | 0,0233                              | 0,0111       |
| ANA: 4,4µM BAP   |      |                                     |              |
| R. Linear        | 1    | 0,0363                              | 0,0188       |
| R. Quadr.        | 1    | 0,0001                              | 0,0155       |
| ANA:8,9µM BAP    |      |                                     |              |
| R. Linear        | 1    | 0,2623**                            | 0,0445       |
| R. Quadr.        | 1    | 0,0001                              | 0,0277       |
| ANA: 17,8µM BAP  |      |                                     |              |
| R. Linear        | Į    | 0,0205                              | 2,6744**     |
| R. Quadr.        | 1    | 0,6115**                            | 0,0222       |
| Residuo          | 45   | 0,0131                              | 0,0500       |

<sup>\*\*</sup> Significativo ao nível de 1% de probabilidade.
\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 9B. Resumo da análise de variância e regressão para tamanho de calos e número de brotos provenientes de folhas de Jatropha podagrica Hook para concentrações de BAP e ANA. UFLA, Lavras/MG. 1995.

| Causas de          | G.L.   | Quadrados médios e significância 1/ |              |
|--------------------|--------|-------------------------------------|--------------|
| variação           |        | Tamanho de calos (cm)               | N° de brotos |
| BAP (µM)           | (4)    |                                     | 1. 00 010103 |
| Regressão Linear   | 1      | 0,3881**                            | 0,7477**     |
| Regressão Quadr.   | 1      | 0,2126**                            | 0,0603       |
| R. Cúbica          | 1      | 0,1077**                            | 0,0088       |
| Desvios de Regr.   | 1      | 0,0230                              | 0,0050       |
| ANA (μM)           |        |                                     |              |
| Regressão Linear   | 1      | 0,2050**                            | 0,4959**     |
| Regressão Quadr. 1 | 1      | 0,1480*                             | •            |
|                    | 0,1400 | 0,0614                              |              |
| Residuo            | 1      | 0,0131                              | 0,0500       |

<sup>\*\*</sup> Significativo ao nível de 1% de probabilidade.
\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.