



simpósio estadual de AGROENERGIA

IV reunião técnica de agroenergia - RS

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE SAIS DO MEIO NA ORGANOGÊNESE INDIRETA DE HIPOCÓTILOS DE PINHÃO-MANSO

Daniele de Souza Masiero¹, Tatiane Casarin², Sérgio Delmar dos Anjos e Silva³, Luciana Bicca Dode⁴

INTRODUÇÃO

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) é um arbusto de crescimento rápido da família Euphorbiaceae que além de propriedades medicinais, tem despertado crescente interesse econômico pelas possibilidades de utilização do óleo obtido das sementes para produção de biocombustíveis (ARRUDA *et al.*, 2004; CHAUDARY *et al.*, 1994; HE *et al.*, 2009).

O cultivo *in vitro*, além de ser uma alternativa para propagação vegetativa da espécie, é uma etapa essencial para o desenvolvimento de protocolos de transformação genética, ampliando as possibilidades de aplicação de ferramentas biotecnológicas para o melhoramento genético da espécie (GRATTAPAGLIA, 1998; MISRA *et al.*, 2012).

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da concentração de sais do meio de cultura *Murashige & Skoog* (MS) na organogênese indireta de hipocótilos de pinhão-manso.

¹ Graduanda de Biotecnologia / Universidade Federal de Pelotas. daniiii.masiero@gmail.com

² Graduanda de Biotecnologia / Universidade Federal de Pelotas. casarintatiane@gmail.com

³ Pesquisador Doutor/ EMBRAPA-CPACT sergio.anjos@cpact.embrapa.br

⁴ Professora Doutora / Universidade Federal de Pelotas. lucianabicca@gmail.com

MATERIAL E MÉTODOS

Os hipocótilos foram obtidos a partir de sementes de pinhão- manso, de uma linhagem promissora do programa de melhoramento da Embrapa Clima Temperado, (Pelotas, Rio Grande do Sul), asépticamente inoculadas em frascos contendo ½ sais do meio MS, 1% (p v) de sacarose,



em fotoperíodo de 16 horas a temperatura de 25 ± 2 °C. Aos 10 dias, hipocótilos foram isolados com auxílio de pinça e bisturi e transferidos para frascos contendo meio de cultura composto pelos sais (MS), 3% (p v) de sacarose, solidificado com 7g L^{-1} de ágar, acrescido de $4,5\text{ mg L}^{-1}$ de BAP e $0,1\text{ mg L}^{-1}$ de Ácido indolbutírico (AIB). Aos 21 dias, foram transferidos para $\frac{1}{2}$ MS, 1% de sacarose ou MS contendo 3% de sacarose, ambos acrescidos de 5 mg L^{-1} de BAP e $0,2\text{ mg L}^{-1}$ de Ácido naftalenacético (ANA). Aos 35 dias foi realizada repicagem mantendo as mesmas condições de cultivo. As avaliações foram realizadas aos 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56 dias de incubação, sendo avaliada a presença de calos, de estruturas potencialmente organogênicas e de brotos. Foram realizadas 16 repetições com cinco explantes em cada tratamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos sete dias foi observada presença de calos em todos os explantes. A formação de calo é uma etapa essencial para o processo de organogênese indireta e tem sido obtida em hipocótilos através da adição de diferentes combinações de reguladores de crescimento ao meio de cultura (CHAUDARY et al., 1994; HE et al., 2009; SOOMRO & MEMON, 2007; MISRA et al., 2012;)

A partir dos 14 dias, houve escurecimento e oxidação de alguns explantes (Figura 1A). He e colaboradores (2009) ao analisar os processos bioquímicos relativos ao escurecimento de calos de pinhão-manso observaram também importantes diferenças morfológicas que implicam na redução da multiplicação celular e potencial de regeneração. A adição de antioxidantes ou inibidores enzimáticos poderá ser uma estratégia importante a ser utilizada a fim de que maiores índices de regeneração sejam obtidos.

Aos 21 dias foi observada a presença de calos organogênicos (Figura 1B) e, a partir de 28 dias, de brotos.

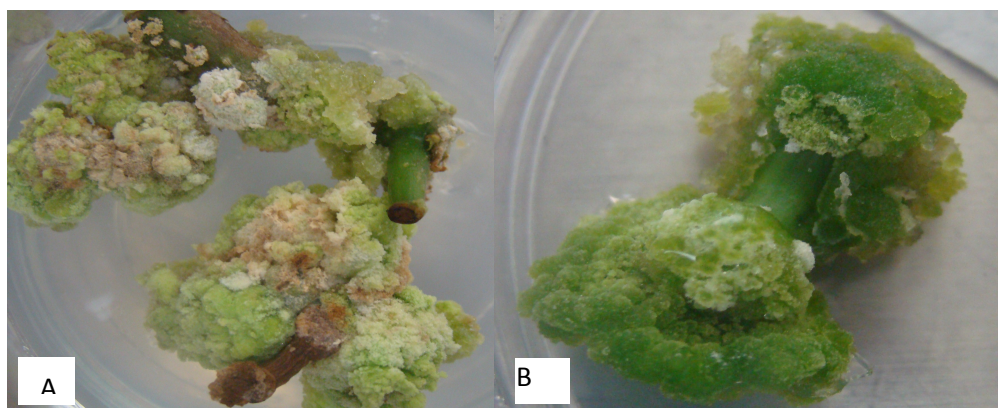


Figura1. A - Explantes com escurecimento e oxidação.

B- Hipocótilo com estruturas potencialmente organogênicas

O número de brotos foi superior no tratamento em MS 3% (Fig. 2). Brotos de ambos tratamentos desenvolveram-se adequadamente após serem transferidos para meio de alongamento (Fig.3).

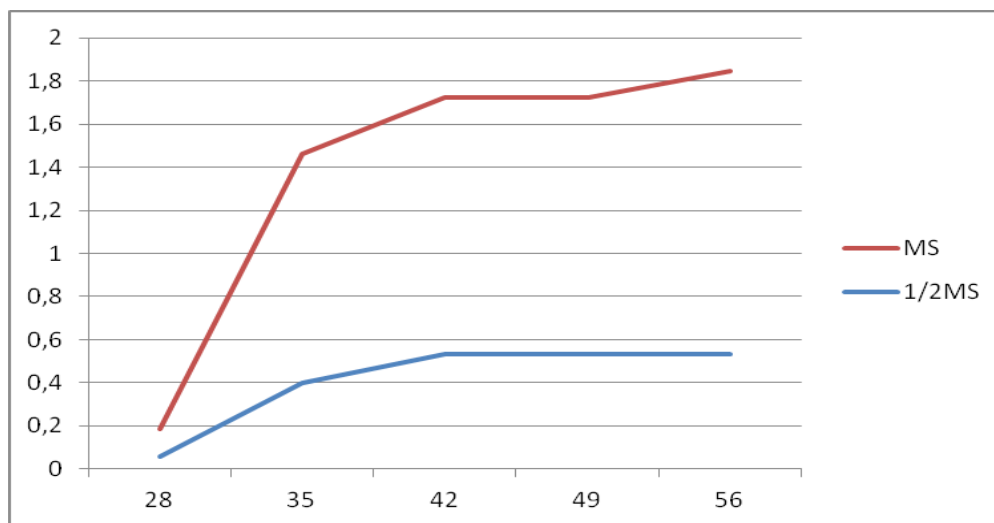


Figura 2. Número médio de brotações /placa contendo hipocótilos de pinhão-manso cultivados em meio $\frac{1}{2}$ MS 1% ou MS 3%, acrescidos de BAP e ANA.



Figura 3. Broto regenerado e repicado para meio de alongamento.

CONCLUSÕES

Nas condições desse estudo, a regeneração a partir de hipocótilos foi mais eficiente em meio MS contendo 3% de sacarose, complementado com os reguladores de crescimento avaliados.

AGRADECIMENTO

FINEP e EMBRAPA-CPACT

REFERÊNCIAS

ARRUDA, F. P. de; BELTRÃO, N. E. de M.; ANDRADE, A. P. de; PEREIRA, W. E.; SEVERINO, L. S. Cultivo de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semiárido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 789-799, 2004.

CHAUDHARY, M.F., QURESHI, K.M., CHAUDHARY, A.H., Tissue culture studies in *Jatropha curcas*. **Pakistan J. Agric. Res.**, v.15, n.1, 1994.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. **Cultura de tecidos e Transformação genética de plantas**. Brasília, p. 183-260, 1998,

HE, Y.; GUO, X.; LU, R.; NIU, B.; PASAPULA, V.; HOU, P.; CAI, F.; XU, Y.; CHEN, F. Changes in morphology and biochemical indices in browning callus derives from *Jatropha curcas* hypocotyls. **Plant Cell Tiss. Organ Cult.**, n.98, p.11-17, 2009.

MISRA, P.; TOPPO, D.D.; MISHRA, M.K.; SAEMA, S.; SINGH, G., *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation protocol of *Jatropha curcas* L. using leaf and hypocotyls segments. **J. Plant Biochem. Biotechnol.** v.21, n.1, p.128-133, 2012

SOOMRO, R., MEMON, R.A., Establishment of callus and suspension culture in *Jatropha curcas*. **Pak.J. Bot.**, v.39, n.7, p.2431-2441, 2007.