

DETERMINAÇÃO DE PROTOCOLO PARA ISOLAMENTO E REGENERAÇÃO DE PROTOPLASTOS A PARTIR DE FOLHAS DE *JATROPHA CURCAS* L.

XXXVIII Encontro de Iniciação Científica

Vitor Pessoa Oliveira, Francisco de Assis De Paiva Campos

Jatropha curcas L., conhecida como pinhão-manso, é uma espécie pertencente à Família Euphorbiaceae com um enorme potencial para a produção de biodiesel. A torta produzida a partir do processamento das sementes é rica em proteínas e nutrientes, portanto poderia ser empregada na alimentação animal ou na produção de fertilizantes, mas a presença de substâncias tóxicas como os ésteres de forbol limita essas aplicações. Técnicas de biologia molecular poderiam ser empregadas para o silenciamento dos genes da sintase do casbeno, produzindo plantas com baixo ou nenhum teor de ésteres de forbol. Para o emprego desta técnica é necessário, primeiramente, que sejam isolados protoplastos da espécie a ser estudada. Este trabalho focou-se no isolamento e regeneração de protoplastos a partir de folhas de pinhão-manso, baseando-se nos protocolos de Park et al. (2012) e Deryckere et al. (2012) com algumas alterações. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação, as folhas jovens foram coletadas e cortadas longitudinalmente, sendo então digeridas em uma solução com 1% de celulase e 0,5% de pectinase por seis horas. Foram isolados em média $7,7 \times 10^6$ protoplastos.mL⁻¹. No entanto estes protoplastos não apresentaram boa qualidade. Em seguida, foram realizadas alterações no protocolo: nas concentrações de celulase e pectinase, no tempo de digestão, plasmólise e centrifugações. Os melhores resultados foram obtidos com 2% de celulase, 0,5% de pectinase, nove horas de digestão, plasmólise overnight e duas centrifugações a 100g por 10 minutos. A qualidade dos protoplastos melhorou, as células apresentaram-se esféricas, translúcidas e a quantidade de detritos diminuiu consideravelmente. Os protoplastos foram cultivados em "beads" de agarose LMPA para a regeneração, no entanto não foi possível observar a presença de microcalos dentro de 25 dias de cultura. Este trabalho determinou um protocolo eficiente para o isolamento de protoplastos a partir de folhas do pinhão-manso.

Palavras-chave: *Jatropha curcas*. Protoplasto. Éster de forbol. Cultura de tecidos.