

Estudo da embriogênese somática em duas variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum sp.*).

Medeiros, Lidiane N.¹; Macedo, C.E.C.²

¹ Mestranda do Centro de Biociências, lidianenoberto@yahoo.com.br ; ² Professora Doutora do Centro de Biociências, Departamento de Biologia Celular e Genética cristianemacedo@ufrnet.br; Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Campus Universitário, Caixa Postal 1524, CEP 59072-970, Lagoa Nova, Natal – RN.

INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum sp.*) é uma das culturas em destaque no panorama agrícola brasileiro e mundial, que atualmente aparece como uma das fontes de combustível mais rentável e renovável. Ocupa uma área plantada de mais de 6,5 milhões de hectares no Brasil, utilizada nas indústrias de açúcar, bebidas e combustível, dentre outros subprodutos (Cesnik & Miocque, 2004). Em 1998, a produção brasileira correspondeu a 27% da produção mundial (FAO, 1998). Para o Estado do Rio Grande do Norte a cana-de-açúcar é de grande importância, não apenas pela economia, mas, pela representatividade histórica norte-riograndense de velhos engenhos que constituíam a principal unidade de produção.

A Usina Estivas destaca-se por abastecer cerca de 90% do Estado do Rio Grande do Norte com açúcar, através do cultivo de variedades provenientes de regiões com solo argiloso. Como o solo no qual tais variedades são cultivadas, retém pouca água por ser arenoso, a usina é forçada a despender gastos elevados com irrigação.

Pesquisas que visem o aumento da produtividade das usinas são indispensáveis para o crescimento do setor sucroalcooleiro. Uma alternativa eficiente é o melhoramento de plantas através da cultura *in vitro* de tecidos vegetais.

A cultura de calos é utilizado em programas de melhoramento, devido a produção de variantes somaclonais (variabilidade genética). Além do que, com a indução de calos, há obtenção de uma maior população de células com capacidade de serem expostas a seleção *in vitro* em presença de agentes estressores.

A técnica de embriogênese somática indireta associada à seleção *in vitro*, segundo Duncan (1997) ajuda a triar mutantes viáveis e que possam se desenvolver em plântulas. Sendo, então, uma forma útil para se obter plântulas resistentes a determinado fator de estresse, como o déficit hídrico.

Nesse contexto, o presente estudo visa determinar entre duas variedades de cana-de-açúcar, qual é a mais eficaz em termos de velocidade e de formação de calos, e qual variedade produz uma maior massa de calos.

MATERIAL E MÉTODOS

Explantes obtidos a partir do ápice caulinar de duas variedades de cana-de-açúcar: RB 72454 (suscetível a baixa disponibilidade de água), e, a SP 81-3250 (resistente a baixa disponibilidade de água) foram utilizados neste trabalho.

Antes da inoculação, fora do fluxo laminar, foi realizada assepsia lavando os palmitos com detergente neutro, em seguida os mesmos foram mergulhados em hipoclorito de sódio 1% por 5 min e lavados três vezes com água destilada.

No fluxo laminar, os palmitos passaram por outro tratamento asséptico: foram mergulhados em álcool 70% por 1 minuto; depois no hipoclorito de sódio 20% com 3 gotas de detergente neutro por 15 minutos; e, por fim lavados três vezes com água destilada e autoclavada.

Após o procedimento asséptico, cada palmito foi desfolhado até a visualização do domo meristemático, ápice caulinar com cerca de 2 cm de comprimento. Neste foram feitos cortes transversais obtendo-se 10 discos, cada um considerado como um explante, de 2mm de espessura. Os cinco primeiros discos correspondiam a região apical (mais próxima ao domo meristemático) e os cinco últimos correspondentes a região basal do explante (mais distantes do domo meristemático) (Figura 1).

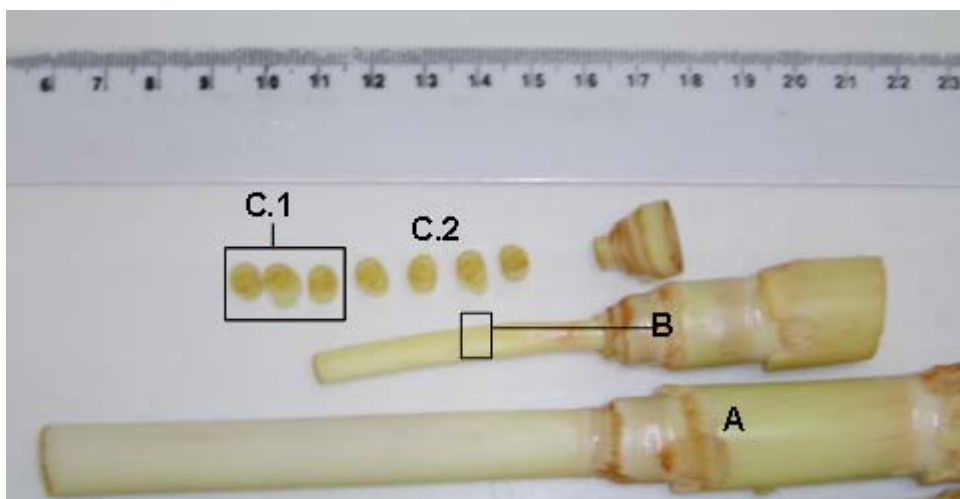


Figura 1: A) palmito desfolhado; B) ápice caulinar indicando o domo meristemático; e, C.1) discos da região apical e C.2) da região basal.

Cada grupo de cinco discos foram distribuídos em placas de petri contendo meio básico MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com 30gL^{-1} de sacarose, 100mgL^{-1} de inositol, 1gL^{-1} de 2,4-D e 2gL^{-1} de fitagel e mantidos no escuro por 90 dias. Os explantes foram subcultivados três vezes em intervalos de 20 dias.

A análise dos resultados obtidos durante o experimento foi através da média percentual, para o aspecto do calo, para o número de calos formados por região do explante próximo ao meristema e a massa de calos formada. O tempo médio de indução de calos foi analisado através do número total de explantes segundo cada velocidade em dias (5, 10 e 15, respectivamente) e calculando a média ponderada (Callegari-Jacques, 2003) para cada variedade, segundo a fórmula:

$$T_m = \frac{\sum (n^\circ \text{ exp} \times 5) + (n^\circ \text{ exp} \times 10) + (n^\circ \text{ exp} \times 15)}{N}$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O início de formação de calos por explante de cada variedade foi observado diariamente, determinando-se assim a velocidade de calogênese. Decorridos 5, 10 e 15 dias após a inoculação observou-se respectivamente taxas de calogênese e desvio padrão (12, 71 e 17%; $\sigma = 2,85$) para RB 72454 e taxas de calogênese e desvio padrão (39, 61 e 0%; $\sigma = 3$) para SP 81-3250, cuja formação de calos iniciou mais rápido (Figura 2).

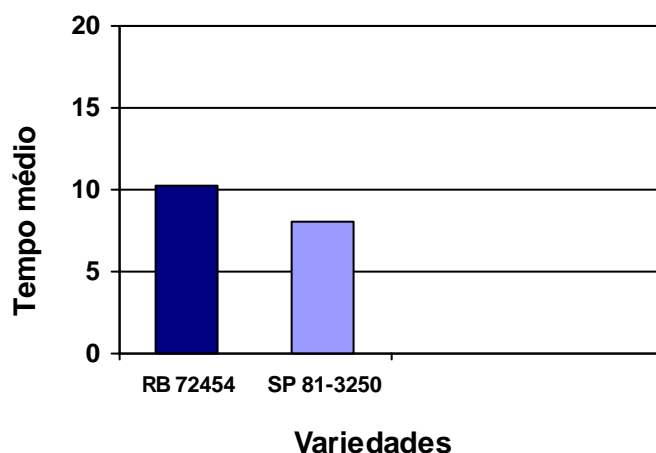


Figura 2: Velocidade média em dias da formação dos calos a partir da inoculação de discos oriundos do ápice caulinar extraídos das variedades RB 72454 e SP 81-3250.

Dentre as características qualitativas que contribuem para definir uma melhor resposta *in vitro* de determinada variedade em relação à outra, está o aspecto do calo, se: compactos (C), friáveis (F) ou, no mesmo explante, friável e compacto (F/C). Dentre os aspectos dos calos, o friável (Figura 3) foi o que apresentou maior porcentagem quando comparados aos demais tipos de calos e, que segundo Liu (1983) e Falco et al (1996) calos friáveis tem uma melhor capacidade de regenerar plântulas do que os calos com aspecto compacto. Com relação aos calos friáveis, as taxas obtidas para a variedade RB 72454 foram de 38% para região apical e 62% para região basal, e para a SP 81-3250 58% para a região apical e 42% para a basal (Figura 4).

Os calos friáveis provenientes dos explantes da RB 72454 originaram-se preponderantemente na região basal, enquanto que na SP 81-3250 houve maior taxa para os explantes da região apical (mais próxima ao meristema). Correlacionando estes dados com a produção de massa de calos, observa-se que a variedade SP 81-3250 obteve uma maior produção de calos, provavelmente porque a região apical é mais próxima do meristema, região esta onde ocorre um maior número de divisões celulares, o que possibilita a obtenção de maior formação de massas de calos em período curto, além de maiores probabilidades de calos embriogênicos com capacidade de regenerar plântulas.

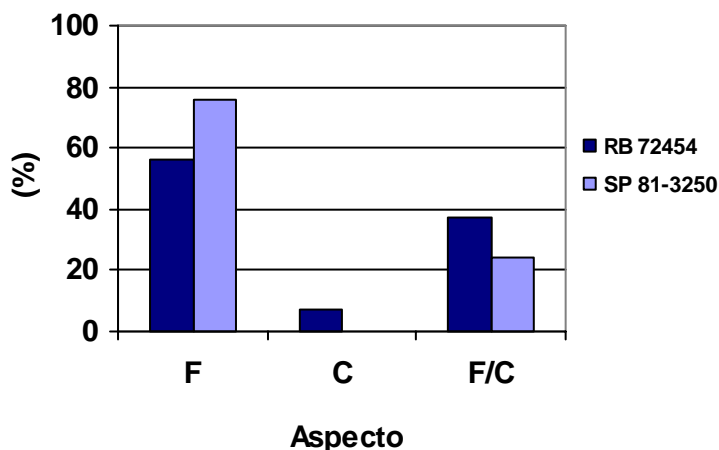


Figura 3: Porcentagem dos tipos de calos formado: friáveis (F), compactos (C) e friáveis/compactos (F/C) nos explantes (totais: apicais e basais) das variedades RB 72454 e SP 81-3250.

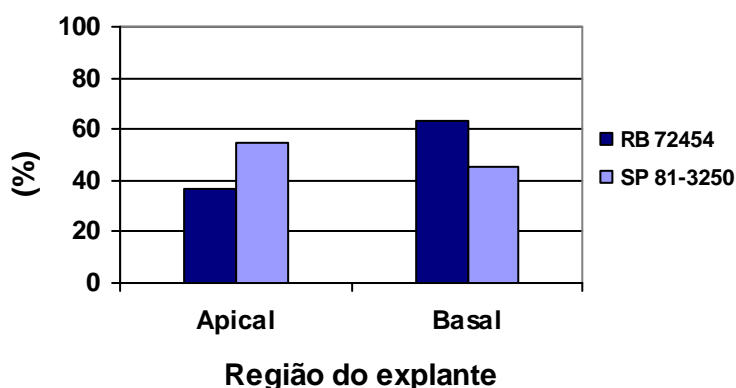


Figura 4: Porcentagem da produção de calos friáveis diferenciando as duas regiões (apical e basal) para as duas variedades, RB 72454 e SP 81-3250.

Em termos de produtividade total de massas de calos pelas variedades, observa-se, que a SP 81-3250 teve 14% a mais que a RB 72454 (Figura 5). Isso, em cultivo *in vitro*, representa vantagem de uma variedade quando comparada a outra, devido a um maior número de células que por sua vez aumenta as possibilidades de

obtenção de variantes somaclonais resistentes a um determinado fator de estresse abiótico.

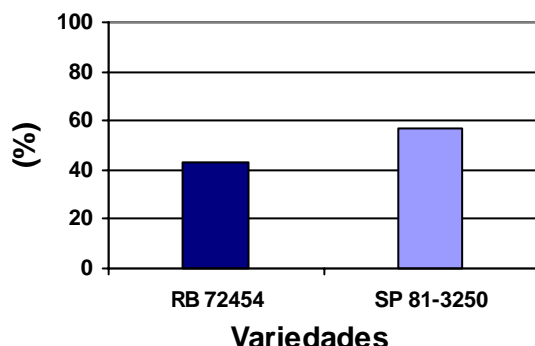


Figura 5: Porcentagem da produção total de massa de calos a partir dos explantes das variedades RB 72454 e SP 81-3250.

CONCLUSÕES

A variedade SP 81-3250 é mais eficaz no que diz respeito à economia de tempo para obtenção de calos, pois a mesma apresentou, além de maior produção de massas de calos, estes com aspecto friável com maior capacidade de regeneração de plântulas. Faz-se, porém, necessário estudos com relação à capacidade de regeneração de calos de ambas variedades.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

CALLEGARI-JACQUES, S. M. **Bioestatística: princípios e aplicações**. Porto Alegre, RS: Artmed, 2003.

CESNIK, R. & MIOCQUE, J. Melhoramento da cana-de-açúcar. Brasília, DF: **EMBRAPA**, 2004.

DUNCAN, R. R. (1997). Tissue Culture – Induced variation in crop improvement. **In: Advances in Agronomy (Sprks, D. L.)** ed. Academy Press, New York, p.201-239, 1997.

FAO (Roma, Itália). Yearbook Production. **FAO Statistics Series**, Rome, v.51, n.148, 142p, 1998

FALCO, M.C.; MENDES, B.M.J.; TULMANN NETO, A.; GLORIA, B.A. Histological characterization of *in vitro* regeneration of Sugarcane sp. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.9, p.93-97, 1996.

LIU, M. Sugarcane. En: **Handbook of plant cell culture**, 1983.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

PALAVRAS-CHAVES

Saccharum sp.; cana-de-açúcar; embriogênese somática; regeneração.

1

¹ AGRADECIMENTOS

Usina Estivas, finep, CNPq e DBG - UFRN