

Tempo resposta de calos embriogênicos de duas variedades de cana-de-açúcar submetidos a um estresse salino

Gomes, Isabele Aragão¹; Marques, Maria Tereza França¹; Dantas, Cibelle Vanucia Santana² & Macedo, Cristiane Elizabeth Costa³.

¹Estudantes do curso de Ciência Biológicas UFRN, (isabele_ag@yahoo.com.br), ²Bolsista Pibic CNPq, estudante do curso de Ciência Biológicas na UFRN (cibelley_rn@hotmail.com) ; ³Prof. Dra. do Departamento de Biologia Celular e Genética da UFRN Campos Universitário, Lagoa Nova, s/n, Centro de Biociências, Departamento de Biologia Celular e Genética, CEP 59072970, natal, RN, fone (84) 32153425;(cirtianemacedo@ufrnet.br).

INTRODUÇÃO

A salinidade é um dos fatores abióticos que interfere no ambiente e no desenvolvimento de algumas plantas que não possuem adaptações para esse estresse. O excesso de sal afeta diferentes propriedades físicas e químicas dos solos e está presente nas regiões de clima semi-áridos do Brasil, sendo considerado como um dos grandes fatores de influência no alto custo de produção de diferentes culturas, como é o caso da cana-de-açúcar, uma das culturas mais importantes para a economia do Brasil. Isso ocorre por que as altas concentrações de sais induzem um estresse iônico e osmótico nas plantas, fazendo com que ocorra uma queda na produtividade (Martins, 2005). Uma das formas de amenizar o problema seria a recuperação dos solos salinos, entretanto essa técnica é onerosa e demorada se tornando inviável, sobretudo para os pequenos e médios agricultores. A busca de soluções para esse problema tem-se intensificado, e um dos meios encontrados é através de variantes somaclonais (mutantes) obtidos por técnicas de cultura de tecido vegetal *in vitro* associados a uma pressão de seleção. Tais técnicas vem sendo largamente utilizadas no melhoramento de diferentes espécies face a salinidade (Trivedia et al., 1991; Hien et al., 2003). Entretanto para se realizar a seleção *in vitro* é necessário não só estabelecer a dose resposta face ao agente estressor como o tempo de exposição que o material biológico, neste caso calos, massas de células formadas *in vitro*, devem ser expostos ao tal agente. Com isso, o objetivo deste trabalho foi determinar o tempo resposta a exposição de calos embriogênicos de cana-de-açúcar ao cloreto de sódio (NaCl), agente estressor utilizado par simular o estresse salino.

METODOLOGIA

Calos embriogênicos das variedades RB 72454 e SP 813250 com idade entre 2 e 4 meses foram selecionados e inoculados em meio de regeneração MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com sacarose, inositol, solidificado com fitagel na ausência (controle) e na presença de NaCl (100mM) para induzir estresse salino. Os calos permaneceram na presença de NaCl durante três tempos de exposição: 5 (T1), 10 (T2) e 15 dias(T3). Logo em seguida, os calos foram subcultivados no mesmo meio para regeneração sem adição de sal e, após 21 dias, foi analisado o aspecto dos calos (tipo e coloração) e computados em percentual (%): os regenerados ou a taxa de conversão de calos em brotações, o número médio de brotações por calos e a taxa de crescimento relativa dos calos. A taxa de crescimento relativa doa calos, em relação ao controle, foi calculada utilizando-se a seguinte formula: $X = (T_1 \times 100 / T_0) - 100$, onde X é taxa de crescimento relativa (em relação ao controle); T_0 é o diâmetro do calos medido no inicio do experimento (antes da imposição do estresse) e T_1 é o diâmetro do calos medido 21 dias após o tempo de exposição ao fator estressante.

RESULTADOS

Com relação à coloração translúcida ou amarelada, os calos com 5 dias de estresse em ambas as variedades não apresentaram coloração translúcida, e para a variedade RB 72454 as % de calos translúcidos em 10 e 15 dias de exposição ou não ao NaCl foram maiores na presença de sal (Gráfico 1).

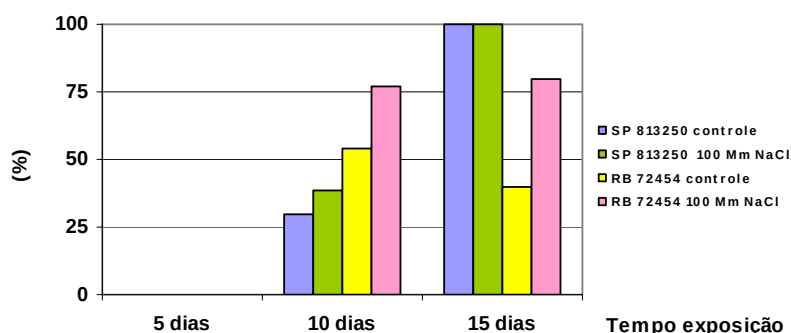


Gráfico 1: Taxa de calos translúcidos das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar nos três tempo de exposição (5; 10 e 15 dias) ao NaCl (100mM) e na ausência (controle) do sal.

Com relação ao aspecto dos calos, observa-se que os mesmos apresentaram um bom desenvolvimento expresso pela taxa de calos friáveis tanto na ausência como na presença de NaCl em todos os tempos de exposição ou não (controle) ao referido sal (Gráfico 2). Entretanto com 10 dias a % de calos friáveis da variedade SP 813250 foi menor no controle quando comparada a taxa de calos friáveis em presença de 100mM de NaCl e a mesma resposta foi observada com 15 dias para a variedade RB 72454.

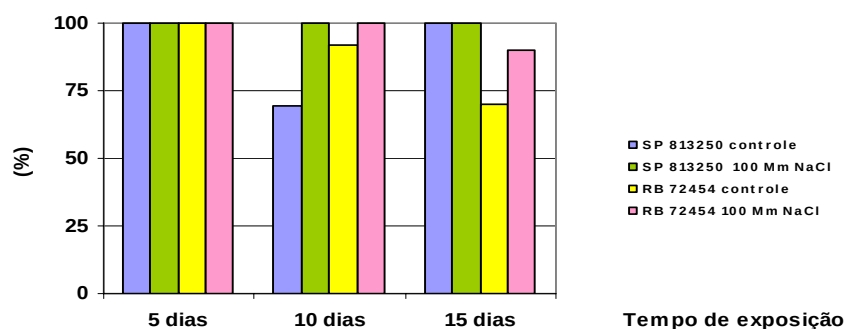


Gráfico 2: Taxa de calos friáveis das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar nos três tempo de exposição (5; 10 e 15 dias) ao NaCl (100mM) e na ausência (controle) do sal.

Analisando a capacidade de regeneração dos calos em brotações após o estresse, observa-se que aqueles estressados durante 10 dias apresentaram uma maior taxa de conversão em brotações em presença de sal em relação ao controle nas duas variedades e que a mesma resposta foi observada com 5 dias para a variedade SP 813250 (Gráfico 3). Observou-se uma diminuição na taxa de regeneração dos calos expostos ao sal durante 15 dias de estresse quando comparada a exposição de 10 dias. Tal redução foi altamente significativa nos calos provenientes da variedade RB 72454. Tais resultados mostram que a variedade SP 813250 é menos afetada pelo sal independente do tempo de exposição ao estresse e que aparentemente existe um tempo resposta (5 e 10 dias) onde a presença do sal deve estimular a regeneração de brotos.

A correlação entre a taxa de regeneração de calos e as taxas de coloração e do aspecto dos mesmos (Gráficos 1 e 2) sugere que provavelmente em cana-de-açúcar calos friáveis e translúcidos submetidos ao estresse salino (100mM de NaCl)

durante 10 dias de exposição possuem uma maior capacidade de se converter em brotos.

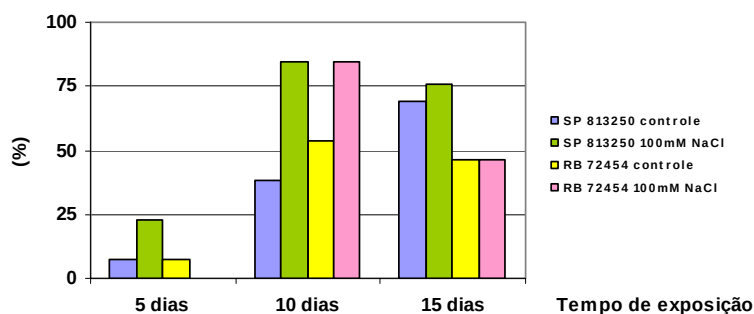


Gráfico 3: Taxa de regeneração de calos que formaram brotos das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar nos três tempo de exposição (5; 10 e 15 dias) ao NaCl (100mM) e na ausência (controle) do sal.

A adição de sal ao meio de cultura durante 10 e 15 dias não afeta e provavelmente estimule ligeiramente a formação de brotos por calos, pois nas variedades SP 813250 e RB 72454 obteve-se uma maior formação de brotos nos calos que tinham sido submetidos ao estresse (Gráfico 4). Entretanto, os calos da variedade RB 72454, como já discutido anteriormente (Gráfico 3), os calos apresentaram-se mais sensível ao sal quando estressados por um período de 5 dias visto que não houve conversão em brotos (Gráfico 4).

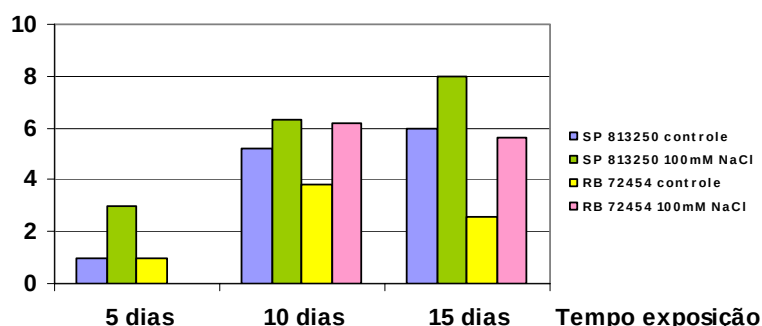


Gráfico 4: Número médio de brotos formados por calos das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar nos três tempo de exposição (5; 10 e 15 dias) ao NaCl (100mM) e na ausência (controle) do sal.

A taxa de crescimento é um dos principais parâmetros para a análise de calos submetidos a estresse abiótico, pois os processos de crescimento são particularmente sensíveis aos efeitos dos sais e da pressão osmótica, de forma que a taxa de crescimento e a produção de biomassa são bons critérios para a avaliação do grau de estresse e da capacidade de superá-lo. (Larcher, 2000).

Nesse trabalho foi possível observar que o NaCl estimulou ligeiramente (10 dias de exposição) e não interferiu (15 dias de exposição) no crescimento de calos da variedade SP 813250, embora o crescimento do controle tenha sido maior, mesmo assim superou a taxa de crescimento daqueles submetidos a 5 e 10 dias de estresse. Os calos da variedade RB72454, expostos ao NaCl durante 15 dias, apresentaram uma taxa de crescimento superior em relação aos outros tempos em presença de sal. Os calos, de ambas as variedades, que foram estressados por 5 dias não se desenvolveram em nenhuma das concentrações testadas (controle e 100mM). (gráfico 5).

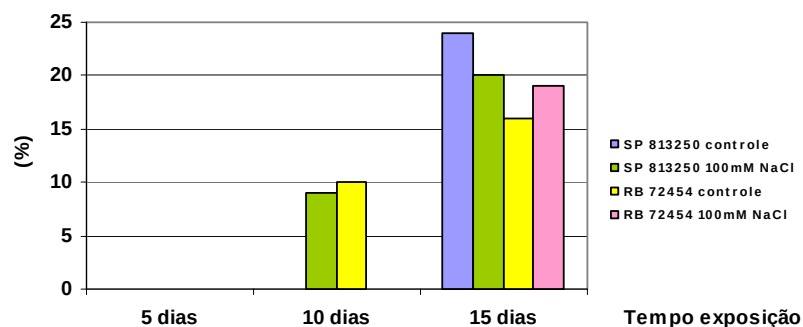


Gráfico 5: Taxa de crescimento dos calos das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar nos três tempos de exposição (5; 10 e 15 dias) ao NaCl (100mM) e na ausência (controle) do sal.

CONCLUSÃO

Dos resultados obtidos, conclui-se que 15 dias é o melhor tempo de exposição ao sal para se realizar a seleção *in vitro* de calos embriogênicos de cana-de-açúcar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

HIEN,D.T., JACOBS, M., ANGENON, G., HERMANS, C., THU, T.T., SON, L.V &ROOSENS, N.H. Proline accumulation and Δ -pyrroline-5-carboxylate synthetase gene properties in the rice cultivars differing in salinity and drought tolerance. **Plant Science**, v.165. p.1059-1068. 2003

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. SP :Rima arte e textos. P.418-433. 2000.

MARTINS, C.P., Estudos comparativos de abacaxizeiros submetidos aos estresses salinos ou hidrônicos cultivados *in vitro* e hidropônia.Natal. RN. 2005.

MURASHIGE,T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**. V.15. p. 473-497. 1962.

TRIVEDIA, S., GALIBAB, G., SANKHLAO, N. & ERDAIA, L. Responses to osmotic and NaCl stress of wheat varieties differing in drought and salt tolerance in cell cultures. **Plant Science** v.73. p.227-232. 1991.

PALAVRAS-CHAVES:

Saccharum officinarum; cana-de-açúcar; Tempo resposta; estresse salino; embriogênese somática.

¹ AGRADECIMENTOS

¹ Usina Estivas; CNPq; FINEP; DBG-UFRN