

DETERMINAÇÃO DE DOSES DE NaCl PARA A REALIZAÇÃO DE SELEÇÃO *IN VITRO* EM CALOS DE CANA DE AÇÚCAR

Marques, Maria Tereza Franco¹; Gomes, Isabele Aragão¹; Dantas, Cibelle Vanucia Santana² & Cristiane Elizabeth Costa de Macedo³.

¹Estudantes do curso de Ciências Biológicas Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, fone (84) 32311427(mariaterezamarques@hotmail.com), ²Bolsista Pibic CNPQ, estudante do curso de Ciências Biológicas na UFRN; 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;(cristianemacedo@ufrnet.br).

INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é um dos principais produtos produzidos no nordeste brasileiro. Atualmente esta planta tem sido atingida por diferentes fatores de estresse, dentre eles a salinidade a qual têm prejudicado a sua produtividade. Programas de melhoramento genético desta espécie visando uma maior resistência à salinidade são necessários para se aumentar à produtividade desta cultura e possibilitar sua introdução em áreas salinizadas que estão sendo constantemente abandonadas.

Variantes somaclonais (mutantes) fonte de variabilidade genética obtida *in vitro* associados a uma pressão de seleção vem sendo largamente utilizados visando o melhoramento de diferentes espécies face à salinidade (Dutta Gupta et al, 1995; Lutts, 1995; Almansouri & Kinet, 2004). Entretanto antes de se realizar uma seleção *in vitro* é necessário conhecer o grau de resistência da espécie estudada face ao fator de estresse determinando-se as doses do agente estressor a serem adicionados ao meio de cultura. Neste caso, pode-se estudar a resposta ao nível celular, utilizando-se assim calos que são massas de células formadas *in vitro*, e ao nível da planta completa.

Neste contexto, o objetivo, pois deste trabalho foi determinar a dose resposta ao cloreto de sódio (NaCl), agente estressor utilizado para simular o estresse salino, de calos embriogênicos de duas variedades (SP813250 e RB72454), de cana-de-açúcar selecionando a variedade mais resistente pela ausência ou menor intensidade dos sintomas causados pelo sal.

METODOLOGIA

Calos embriogênicos das variedades RB72454 e SP813250 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 fitigel na ausência (controle) e na presença de NaCl (50; 100 e 200mM) para induzir estresse salino.

Os calos permaneceram na presença de NaCl durante 15 dias. Seguida a exposição ao estresse os calos foram subcultivados no mesmo meio para regeneração sem adição de sal. Após 21 dias o primeiro subcultivo em meio de regeneração foi analisado o aspecto dos calos (tipo e coloração) e computados: o número de calos 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 (em relação ao controle) dos calos foi calculada utilizando-se a seguinte fórmula: $X = (T1 \times 100 / T0) - 100$, onde X é taxa de crescimento relativa (em relação ao controle) T0 é o diâmetro dos calos medido no início do experimento (antes da imposição do estresse) e T1 é o diâmetro dos calos medido 21 dias após o tempo de exposição ao fator estressante.

RESULTADOS

Decorrido 15 dias após o estresse foi observado características qualitativas como tipo de calo e coloração e quantitativas como número de calos regenerados, número de brotações por calos e taxa de crescimento dos calos das duas variedades estudadas. Observou-se que em ambas variedades a maioria dos calos é do tipo friável e de coloração translúcidos. Porém, todos os calos provenientes da variedade SP813250 e independente da dose apresentaram-se friáveis e de coloração translúcidos, enquanto que na RB72454 as taxas de calos friáveis e coloração translúcida variaram entre 60 e 100% e 40 e 100% respectivamente (Gráficos 1 e 2). Dentre o aspecto geral dos calos, os friáveis e translúcidos foram os que apresentaram diferença significativa quando comparados aos compactos e amarelados. De acordo com Torres (1998), calos friáveis e translúcidos têm uma maior capacidade regenerativa.

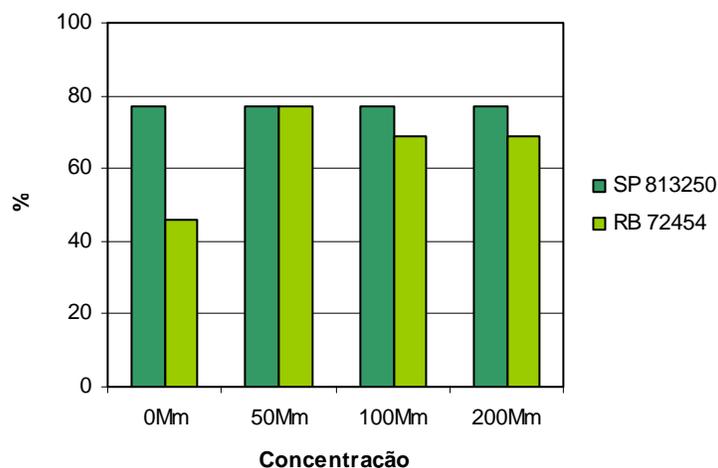


Gráfico 1: Taxa de calos friáveis das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar na ausência (controle) e na presença de NaCl (50; 100 e 200mM).

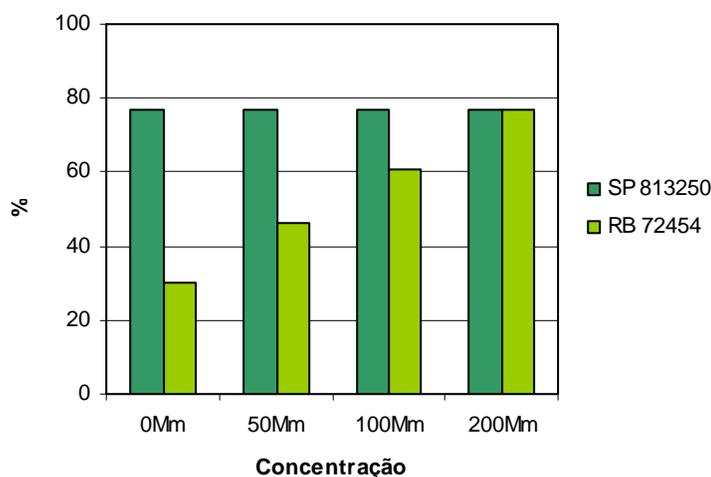


Gráfico 2: Taxa de calos translúcidos das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar na ausência (controle) e na presença de NaCl (50; 100 e 200mM).

A adição de NaCl ao meio de cultura não afetou nem o crescimento nem a regeneração *in vitro*. A variedade SP 813250 obteve um melhor desempenho em todas as

concentrações de NaCl utilizadas, nas doses mais elevadas (exceto 100mM), os calos cresceram e regeneraram de forma significativa (Gráficos 3 e 4).

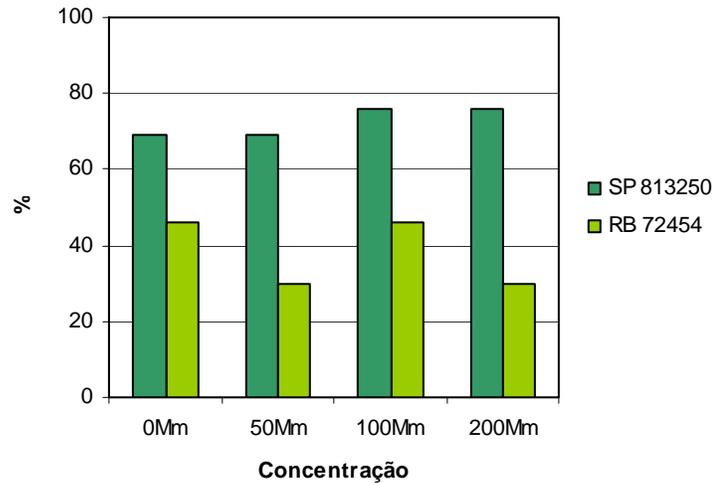


Gráfico 3: Taxa de regeneração de calos das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar na ausência (controle) e na presença de NaCl (50; 100 e 200mM).

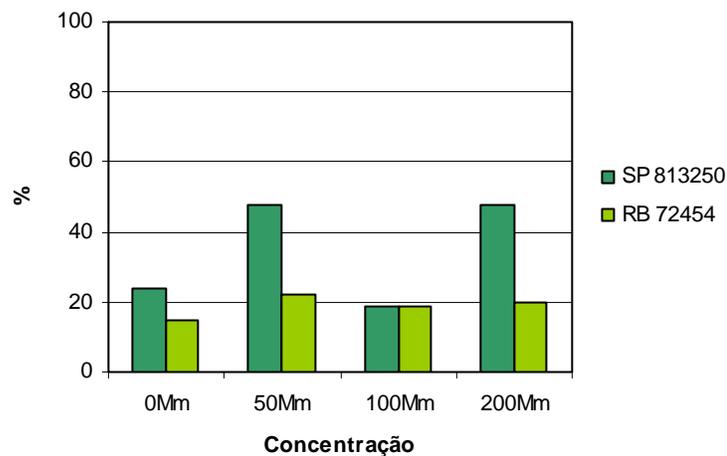


Gráfico 4: taxa de crescimento de calos das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar na ausência (controle) e na presença de NaCl (50; 100 e 200mM).

Observou-se que os calos mesmo em altas concentrações de sal mantiveram a capacidade regenerativa, a variedade SP813250 novamente se sobressaiu em relação à variedade RB72454, exceto na concentração de 50mM (Gráfico 5).

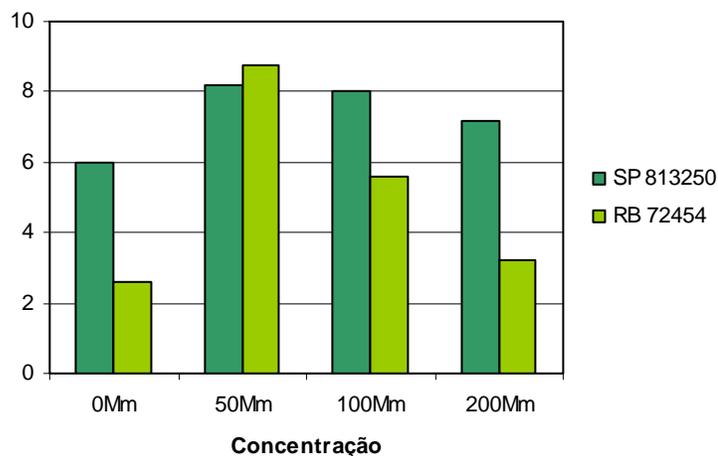


Gráfico 5: Número médio de brotações formados por calos das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar na ausência (controle) e na presença de NaCl (50; 100 e 200mM).

CONCLUSÃO

As doses de NaCl eleitas para serem usadas na seleção *in vitro* de calos de cana-de-açúcar são: 100 e 200 mM.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

ARAÚJO, J.B., GHEYI, H.R., AZEVEDO, N.C., Tolerância da bananeira à salinidade em fase inicial de desenvolvimento. Brasília. DF.1995

HEUER, B. Influence of application of proline and glycinebetaine on growth of salt-stressed tomato plants. **Plant science**, v.165. p. 693-699. 2003

MARTINS, C.P., Estudos comparativos de abacaxizeiros submetidos aos estresses salinos ou hídricos nos cultivos *in vitro* e hidroponia. Natal. RN. 2005

MURASHIGE, T., SKOOG, F., A revised médium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Compenhagem, v.15. 1962

PALAVRAS-CHAVE

Saccharum Officinarum; Cultura *In vitro*; Dose resposta; Cloreto de Sódio(NaCl).

. Agradecimento¹

¹ Usina Estivas; Cnpq; Finep; DBG-UFRN