



Efeito da 5-azacitidina no desenvolvimento de embriões somáticos em calos de cana-de-açúcar (*Saccharum spp. L.*)

Márcia Helena de Oliveira Martins, Lucas Xavier, Maria Fernanda Abrão Santos de Azeredo, Vanildo Silveira, Vitor Batista Pinto.

A cana-de-açúcar é uma das mais importantes culturas para produção de açúcar, biocombustíveis e bioenergia. Uma abordagem utilizada para a micropropagação da cana-de-açúcar é a embriogênese somática. A metilação do DNA é essencial para o desenvolvimento de embriões somáticos e o reagente desmetilante 5-azacitidina (5-AzaC) vem sendo amplamente utilizado em protocolos de embriogênese somática. Estudos indicam que a 5-AzaC age no início e na progressão da embriogênese somática, no qual a longo prazo pode ocorrer diminuição na produção de embriões somáticos, enquanto seu efeito a curto prazo aumenta quantitativamente o número de embriões somáticos maduros. Estudando alterações que ocorrem na metilação do DNA, podemos compreender como estes fenômenos influenciam na aquisição e desenvolvimento celular em culturas *in vitro*, possibilitando novas estratégias de aumento de capacidade embriogênica em calos de cana-de-açúcar. O presente projeto tem por objetivo avaliar o efeito do modificador de histonas 5-AzaC no desenvolvimento de embriões somáticos de cana-de-açúcar. Plantas de cana-de-açúcar (SP 8032-80) de aproximadamente 60 dias de idade foram utilizadas como fonte de explantes. As folhas mais velhas foram retiradas e os cilindros centrais resultantes, contendo somente as folhas jovens, foram desinfestadas no fluxo laminar, utilizando solução de etanol 70% por 1 minuto, e imersão em água sanitária comercial (1:2) por 30 minutos, posteriormente lavada em água destilada por três vezes. Os cilindros foliares foram seccionados em discos com cerca de 2-3 mm e foram inoculados em meio MS suplementado com 2% de sacarose, 2g L⁻¹ de Phytigel e 10µM do ácido 2,4-D. Os tubos foram mantidos no escuro por 45 dias, a 25 °C (± 1 °C), foram obtidas 17,58% de culturas embriogênicas. Após três subcultivos dos calos embriogênicos foram submetidos a um pré-tratamento de maturação em meio MS, suplementado com 20g L⁻¹ de sacarose e 2g L⁻¹ de Phytigel® e diferentes concentrações de 5-Azac (0; 2,5; 5 e 10 µM). Após cada período de pré-maturação, quatro calos de 250mg cada foram transferidos para placa de Petri contendo meio MS, suplementado com 30g L⁻¹ de sacarose e 2g L⁻¹ de Phytigel® para maturação dos embriões somáticos em fotoperíodo de 16h luz. Foram coletadas amostras para análises histoquímicas, proteômicas e de expressão gênica nos tempos zero (início da pré-maturação), ao final do período de pré-maturação e após 14 dias no período de maturação. Após o período de 42 dias, será realizada a contagem de embriões somáticos maduros. Com os resultados obtidos, espera-se avançar no conhecimento da relação da epigenética no desenvolvimento da embriogênese somática em cana-de-açúcar.

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
CNPQ – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico