

## Organogênese *in vitro* de batata (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Atlantic visando à transformação genética.

Rezende, Rodrigo Kelson Silva<sup>1</sup>; Pasqual, Moacir<sup>2</sup>; Paiva, Luciano<sup>3</sup>; Nogueira, Gabriela Ferreira<sup>4</sup>; Paiva, Renato<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), Bolsista do CNPq, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829-1172, e-mail: [rkelsonsr@yahoo.com.br](mailto:rkelsonsr@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor do Departamento de Agricultura (UFLA), fone (35) 3829-1783, e-mail: [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br); <sup>3</sup>Professor do Departamento de Química (UFLA), fone (35) 3829-1624, e-mail: [luciano@ufla.br](mailto:luciano@ufla.br); <sup>4</sup>Graduanda em Ciências Biológicas, bolsista de Iniciação Científica FAPEMIG, e-mail: [gabi\\_bioufla@hotmail.com](mailto:gabi_bioufla@hotmail.com); <sup>5</sup>Professor do Departamento de Biologia (UFLA), fone (35) 3829-1359, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br).

### INTRODUÇÃO

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é uma das mais importantes oleráceas cultivadas no Brasil, com área plantada em torno de 182.000 hectares e produção ao redor de 2,7 milhões de toneladas (Choer, 2003). A batata apresenta características importantes para a transformação genética, tais como susceptibilidade à infecção por *Agrobacterium tumefaciens* – sistema de transferência de genes mais utilizado para espécies dicotiledôneas – e a relativa facilidade com que plantas transgênicas têm sido regeneradas a partir de diferentes explantes, através de diferentes sistemas de cultura de tecidos. Além disso, o modo de propagação desta espécie, vegetativamente, permite que a expressão clonal de um indivíduo transformante de batata ocorra sem variação epistática da expressão do transgene, a qual muitas vezes ocorre durante a propagação sexual (Vayda & Belknap, 1992).

A técnica de cultivar tecidos de plantas *in vitro* tem servido como ferramenta em diversas áreas da agricultura. Particularmente para a cultura da batata, esta técnica pode ser muito útil quando pretende-se trabalhar com transformação genética desta espécie.

Objetivou-se estabelecer um protocolo para regeneração de brotações de batata, cultivar Atlantic, combinando-se diferentes tipos e doses de reguladores de crescimento, visando posteriores estudos envolvendo transformação genética.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório Central de Biologia Molecular (LCBM) da Universidade Federal de Lavras (UFLA) utilizando-se plantas de batata (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Atlantic, cedidas pela empresa de biotecnologia Multiplanta, localizada no município de Andradas – MG.

Foram utilizados como explantes segmentos internodais medindo 0,7 - 0,8cm de comprimento, obtidos de plantas doadoras com 3-4 semanas de idade. Inoculou-se os explantes em placas de petri contendo meio MS (Murashige & Skoog, 1962) sólido, suplementado com 30g L<sup>-1</sup> de sacarose e diferentes tipos e doses de reguladores de crescimento (ANA: ácido naftaleno-acético, AIA: ácido indol-3-acético e ZEA: zeatina ribosídeo) combinados aleatoriamente, resultando em diferentes tratamentos, conforme mostra a tabela 1. Cada tratamento consistiu de 2 repetições(placas) com 10 explantes em cada.

Incubou-se as placas durante 30 dias em câmara de crescimento com temperatura de 23°C ± 1°C, fotoperíodo de 16 horas e irradiância de fótons de 43µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. As variáveis estudadas após 30 dias foram: % de explantes contendo calo desenvolvido, e % de explantes contendo brotações.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que o número de calos e brotos formados variou de acordo com o tratamento empregado (Figura 1). Exceto no tratamento controle, todos os tratamentos

propiciaram a formação de calos, sendo que o tratamento T7 apresentou o melhor resultado, pois proporcionou 100% de calogênese. Este mesmo tratamento também propiciou a maior formação de brotos (30%). Não houve formação de brotos no tratamento controle (T1) e nos tratamentos em que se utilizou a combinação de AIA e ZEA (T8 à T13).

De maneira geral, a suplementação do meio de cultura com diferentes tipos e concentrações de reguladores de crescimento tem influência direta no processo de morfogênese *in vitro* (Grattapaglia & Machado, 1998).

Segundo Skoog & Miller (1957) níveis mais elevados de citocininas em relação aos de auxinas induzem a formação de brotos. Isto pode ser observado, por exemplo para o tratamento T7, onde a concentração de ZEA (citocinina) foi de 5,0mg L<sup>-1</sup> e a de ANA (auxina) foi de 1,0 mg L<sup>-1</sup>.

A morfogênese de calos nem sempre leva à formação de brotações viáveis. Embora brotos e raízes possam ser emitidos, pode não ocorrer uma conexão vascular entre eles, o que é de extrema necessidade para a viabilização do propágulo (Wetmore & Rier, 1963).

Campos (1995) trabalhando com batata cv. Baronesa, obteve 80% de explantes com formação de calos e 46% de formação de brotos utilizando diferentes meios de cultura, propostos por Trinca et al. (1991).

O tratamento T7 foi o que propiciou melhores resultados para a regeneração *in vitro* de batata cv. Atlantic.

Tabela 1. Tratamentos obtidos por meio da interação entre diferentes concentrações de ANA, AIA e ZEA.

Tratamento	ANA (mg L <sup>-1</sup> )	AIA (mg L <sup>-1</sup> )	ZEA (mg L <sup>-1</sup> )
T1	0	0	0
T2	0,1	0	0,1
T3	0,1	0	1,0
T4	0,1	0	5,0
T5	1,0	0	0,1
T6	1,0	0	1,0
T7	1,0	0	5,0
T8	0	0,1	0,1
T9	0	0,1	1,0
T10	0	0,1	5,0
T11	0	1,0	0,1
T12	0	1,0	1,0
T13	0	1,0	5,0

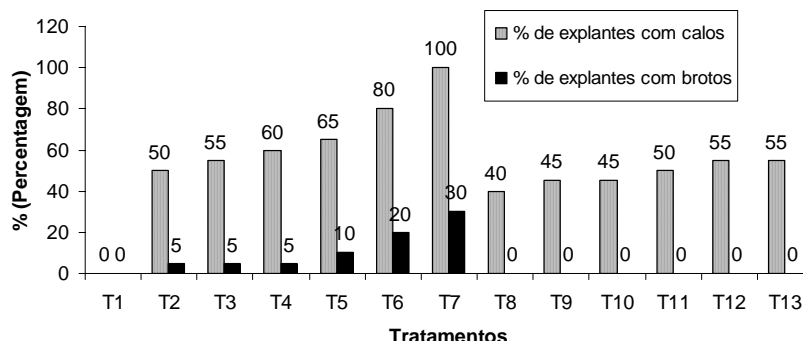


Figura1. Percentagem de formação de calos e brotos em segmentos internodais de batata cv. Atlantic, após 30 dias de cultivo *in vitro*.

## CONCLUSÕES

Foi possível estabelecer um protocolo de organogênese *in vitro*, a partir de internós de batata cv. Atlantic, visando a transformação genética desta espécie. Para tal procedimento recomenda-se utilizar o meio MS sólido suplementado com 30g L<sup>-1</sup> de sacarose, 5mg L<sup>-1</sup> de ZEA e 1,0 mg L<sup>-1</sup> de ANA.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAMPOS, M. A. **Sistema de transformação de batata (*Solanum tuberosum* L.) cultivar baronesa mediado por *Agrobacterium tumefaciens***. 1995. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitomelhoramento). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

CHOER, E. Origem e Evolução. In: PEREIRA, A.S.; DANIELS, J. (Eds.). **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Brasília: Embrapa, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p.57-68.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. v. 1, p. 183-260.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.**, n.15, p. 473-97, 1962.

SKOOG, F.; MILLER, C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultures in vitro. **Symp. Soc. Exp. Biol.**, n.11, p.118-31, 1957.

TRINCA, S.; DE PACE, C.; CACCIA, R.; SCARASCIA-MUGNOZZA, G.; DODDS, J.H.; JANES, J. Transformation of potato (*Solanum tuberosum* L.) leaf disc using *A. tumefaciens* mediated transfer of DNA sequences coding for lytic peptides. In: **Molecular methods for potato improvement**. Report of the panning conference on application of molecular techniques to potato germplasm enhancement, International Potato Center (CIP), 5-9, March 1990, Lima, peru, p. 85-95, 1991.

VAYDA, M.E.; BELKNAP, W.R. The merngence of transgenic potatoes as commercial products and tools for basic science. **Transgenic Research**, v.1, p.149-163, 1992.

WETMORE, R. H.; RIER, J. P. Experimental induction of vascular tissues in callus of angiosperms. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 50, n. 5, p. 418-430, May 1963.

## PALAVRAS-CHAVES

*Solanum tuberosum* L; batata; organogênese; cultivo *in vitro*; transformação genética.