

## REGENERAÇÃO DE GENÓTIPOS TROPICAIS DE SORGO A PARTIR DE EMBRIÕES IMATUROS

As técnicas de engenharia genética utilizam o cultivo *in vitro* para a transformação de plantas. Conseqüentemente, o desenvolvimento de protocolos de cultivo *in vitro* e a regeneração de plantas são essenciais para a produção de plantas transgênicas.

Recentemente, tornou-se possível a transformação de sorgo *in vitro* utilizando-se genótipos temperados. Todavia, para que essa técnica possa ser estendida a genótipos tropicais de sorgo, há necessidade da identificação de genótipos com alta capacidade de regeneração de plantas. Este trabalho foi conduzido visando avaliar o potencial de regeneração de plantas de genótipos tropicais de sorgo.

Para a indução dos calos, foram colocados embriões com 1,0 a 1,5 mm de comprimento (aproximadamente doze dias de idade) em meio contendo sais MS, vitaminas, aminoácidos, sacarose, gelrite e Dicamba ou 2,4-D, nas doses de 30  $\mu$ M e 15  $\mu$ M, respectivamente. Usaram-se placas de Petri com 10 cm de diâmetro, plaqueando-se 16 embriões por placa. Os calos foram subcultivados a cada 20 dias, mas objetivando reduzir a formação de compostos fenólicos, testou-se também o subcultivo a cada sete dias e a adição de 3 ml de meio líquido sobre o meio semi-sólido, em condição de agitação. Para a regeneração, os calos foram transferidos para um meio sem auxina, por cinco a dez dias, transferidos novamente para outro meio contendo 3 mg BAP/l por três dias, e então retornados ao meio de regeneração inicial. Quando as plantas atingiram aproximadamente 10 cm de comprimento, foram plantadas em vasos e colocadas em casa de vegetação, sob nebulização intermitente, durante dez dias, e cultivadas até a maturação das sementes. Foram testadas as variedades BR 007 A e BR 0012 B (graníferos) e BR 501 R (sacarino). Foi possível a regeneração de plantas nos genótipos BR 501 R e BR 007 A. No entanto, os calos do BR 501 R apresentaram melhor desenvolvimento que os demais, havendo regeneração de grande número de plantas. Em todos os tratamentos, observou-se grande formação de compostos fenólicos, caracterizados pelo escurecimento dos calos. Os tratamentos com meio líquido e agitação e a redução do período de subcultivo aparentemente não reduziram a produção de fenóis, mas apenas dispersaram os compostos já formados. Todavia, mesmo nos calos bastante escuros, verificou-se a formação de um grande número de plantas. - *Carlos Henrique Siqueira de Carvalho, Luiz Afonso de Assis.*

## IDENTIFICAÇÃO DE GENÓTIPOS TROPICAIS DE MILHO COM ALTA CAPACIDADE DE REGENERAÇÃO DE PLANTAS

O sucesso da aplicação das modernas técnicas de transformação de plantas requer a identificação de

genótipos com capacidade de regeneração de plantas *in vitro*. Em milho, apesar de ser grande o número de genótipos capazes de regenerar plantas, a maioria dos genótipos estudados é adaptada a clima temperado. São poucos os genótipos adaptados ao clima tropical que apresentam alta capacidade de regeneração de plantas.

Visando identificar novos genótipos de origem tropical com alta capacidade de regeneração de plantas, iniciou-se um trabalho de identificação e seleção, utilizando-se genótipos do programa de melhoramento de milho do CNPMS. O trabalho foi iniciado em julho de 1990 e incluiu a identificação de genótipos capazes de formar calos do Tipo II que apresentassem alta capacidade de regeneração de plantas e o estudo de vários meios de indução de calos e de regeneração de plantas. Até o momento, foram testados 140 genótipos.

Em março de 1993, um grupo contendo os 34 genótipos mais adaptados ao cultivo *in vitro* e com reconhecida capacidade de regeneração de plantas, ou com alguma característica agrônômica de interesse, foi novamente plantado, para uma avaliação conjunta da capacidade de regeneração de plantas (Tabela 46). Foram estudados seis meios de indução e manutenção de calos, compostos basicamente por sais inorgânicos N6, sacarose (30 g/l), casaminoácidos (100mg/l), glicina (30 mM), tiamina (15  $\mu$ M), ácido nicotínico (7,5  $\mu$ M), piridoxina (7,5  $\mu$ M), mioinositol (550  $\mu$ M), e gelrite (2,3 g/l), com as seguintes suplementações: 15 ou 30  $\mu$ M de Dicamba (meios CM-15 E CM-30, respectivamente), na presença de 15 mg/l de Ag NO<sub>3</sub> (meios CM-15 Ag e CM-30 Ag); ou 25 mM Prolina (meios CM-15 PRO e CM-30 PRO) e de 15 mg/Ag NO<sub>3</sub> + 25 mM de Prolina (meios CM-15 Ag PRO e CM-30 Ag PRO). Para o plaqueamento dos explantes, usaram-se embriões imaturos com 1,0 a 2,0 mm de comprimento. Durante a manutenção, os calos foram mantidos no escuro, a 26  $\pm$  1°C e subcultivados a cada 15 dias. Aos oito meses de idade, cinco setores de calos, com 50 a 60 mg cada, foram pesados e colocados em uma placa de Petri, para a regeneração de plantas. Para o genótipo 20, usaram-se também calos com 17 (genótipo 20/17) e 30 (genótipo 20/30) meses de idade. Usaram-se seis placas de Petri para cada genótipo. Durante a regeneração de plantas, utilizou-se o mesmo meio usado para a manutenção dos calos, porém com sais MS e sem a presença de Dicamba e AgNO<sub>3</sub> (meio RM). Quando as plantas atingiam 5 a 8 cm de comprimento, eram transferidas para um frasco de 200 ml. Aos 50 dias de idade, era feita uma avaliação do número de plantas regeneradas em cada genótipo.

Foi possível a regeneração de plantas em 29 dos 34 genótipos testados (Tabela 47). Os genótipos das populações BR 105 (suwan), BR 112, BR 111 e Catete apresentaram alta capacidade de regeneração de plantas, evidenciando o alto potencial para a regeneração de plantas de genótipos tropicais de milho. - *Carlos Henrique Siqueira de Carvalho, Patricia Nascimento Bordallo, Nívia Lino*