

UFSCar - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CCET – CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA  
DQ - DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
*Trabalho de Conclusão de Curso*

Amanda Dutra Sanchez

Embriogênese somática de Cana-de-Açúcar: Uma Revisão  
Bibliográfica

SÃO CARLOS -SP  
2024

Amanda Dutra Sanchez

Embriogênese somática em Cana-de-Açúcar: Uma Revisão  
Bibliográfica

Trabalho de conclusão de curso  
apresentado ao Departamento de  
Química da Universidade Federal de São  
Carlos, para obtenção do título de  
Bacharel em Química

Orientadora: Dra. Dulce Helena Ferreira de Souza

São Carlos-SP  
2024

**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS****DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - DQ/CCET**

Rod. Washington Luís km 235 - SP-310, s/n - Bairro Monjolinho, São Carlos/SP, CEP 13565-905

Telefone: (16) 33518206 - <http://www.ufscar.br>

DP-TCC-FA nº 26/2024/DQ/CCET

**Graduação: Defesa Pública de Trabalho de Conclusão de Curso****Folha Aprovação (GDP-TCC-FA)****FOLHA DE APROVAÇÃO****AMANDA DUTRA SANCHEZ****EMBRIOGÊNESES SOMÁTICA DE CANA-DE-AÇÚCAR: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA****Trabalho de Conclusão de Curso****Universidade Federal de São Carlos – Campus São Carlos**

São Carlos, 03 de setembro de 2024

**ASSINATURAS E CIÊNCIAS**

Cargo/Função	Nome Completo
Orientador	Profa. Dra. Dulce Helena Ferreira
Membro da Banca 1	Dra. Aparecida Leonir da Silva
Membro da Banca 2	Dra. Kelli Micocci



Documento assinado eletronicamente por **Ricardo Samuel Schwab, Professor(a)**, em 04/09/2024, às 08:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufscar.br/autenticacao>, informando o código verificador **1569717** e o código CRC **5485F693**.

**Referência:** Caso responda a este documento, indicar expressamente o Processo nº 23112.001933/2024-38

SEI nº 1569717

Modelo de Documento: Grad: Defesa TCC: Folha Aprovação, versão de 02/Agosto/2019

## AGRADECIMENTO

Primeiramente, agradeço a Deus e a todos os espíritos amigos e guardiões por terem me auxiliado, guiado e me dado forças para chegar até aqui.

Sou imensamente grata ao meu pai, Claudiomar, e à minha mãe, Luciana, por serem minha inspiração e meu alicerce. Agradeço por nunca me deixarem desistir e por sempre me apoiarem incondicionalmente.

Meu agradecimento também vai para minhas irmãs, Ariane e Aline, pelo carinho e suporte constante, e para minha afilhada, Beatriz, por todo o amor e inspiração. Agradeço ainda ao meu cunhado, Maycon, e ao meu tio, Gilmar, pela ajuda e apoio. Agradeço profundamente ao meu grande amor, Luis Felipe, por cada gesto de cuidado e carinho, por sempre me fazer acreditar em meus sonhos e por nunca permitir que eu desista.

Sou grata à minha cunhada, Ana Carolina, pelo apoio e suporte diário, e à minha família Inês, Sergio, Tereza, Maria Helena, Maria Isabel, Nailde, Marcio e Leandro, por todas as orações, incentivos e apoio constante.

Agradeço de coração à minha supervisora e amiga, Ingrid Barbosa, por todas as oportunidades, pelo carinho, ajuda e por ter facilitado todo o processo que me trouxe até aqui.

Por fim, sou grata às minhas amigas Laura Guerrini, Mariane Tolaine, Juliana Veríssimo, Núbia de Castro, Tatiane Silva, Dagna Maria e Letícia Diehl, por cada risada e palavra de incentivo ao longo desta jornada.

## RESUMO

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) é uma das culturas mais produzidas e utilizadas no mundo, especialmente no Brasil. No entanto, essa alta demanda pode gerar desafios na produção, motivando grupos de pesquisa a explorarem modificações genéticas para a otimização da produção de cana-de-açúcar. Desta forma, o objetivo deste trabalho é realizar uma revisão bibliográfica sobre o uso de calos embriogênicos na cana-de-açúcar geneticamente modificada. Para auxiliar nesta revisão, os trabalhos encontrados são provenientes de buscas nas plataformas Periódicos Capes e Google Acadêmico, elencando trabalhos que fossem compatíveis com o tema. A partir disso, é notável que o Brasil possui muitos locais de difícil produção da cana, seja pelas mudanças climáticas como altas temperaturas, chuvas ou problemas de solo infértil. Nesse contexto, as modificações genéticas emergem como uma alternativa promissora para manter a produção e sustentar a economia. -A micropropagação, via produção de calos embriogênicos, é uma ferramenta essencial nesse processo, permitindo a multiplicação em larga escala e a escolha de genótipos de alto desempenho para o melhoramento genético da cana-de-açúcar. Sendo assim, estudos conduzidos pela Embrapa, Ridesa, CTC e IAC são essenciais nesse caminho, visando compreender a cana, seus genótipos e otimização da produção dessa cultura.

**Palavras-chave:** Cana-de-açúcar; Modificação genética; Calos embriogênicos; Transformação genética.

## ABSTRACT

Sugarcane (*Saccharum officinarum*) is one of the most widely produced and utilized crops in the world, especially in Brazil. However, this high demand can create challenges in production, motivating research groups to explore genetic modifications to optimize sugarcane production. Thus, the objective of this work is to conduct a literature review on the use of embryogenic calli in genetically modified sugarcane. To assist in this review, studies were sourced from searches on the Periódicos Capes and Google Scholar platforms, selecting works compatible with the topic. From this, it is evident that Brazil has many regions where sugarcane production is challenging, due to factors such as climate change, high temperatures, heavy rains, or infertile soil problems. In this context, genetic modifications emerge as a promising alternative to maintain production and sustain the economy. Micropropagation, through the production of embryogenic calli, is an essential tool in this process, allowing large-scale multiplication and the selection of high-performance genotypes for the genetic improvement of sugarcane. Therefore, studies conducted by Embrapa, Ridesa, CTC, and IAC are essential on this path, aiming to understand sugarcane, its genotypes, and the optimization of this crop's production.

**Keywords:** Sugarcane; Genetic modification; Embryogenic calluses; Genetic Transformation

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema ilustrativo das diferenças entre plantas C3 e C4.	11
Figura 2 - Exemplos de auxinas naturais e sintéticas.	15
Figura 3 - Processo de regeneração de plantas a partir de calos embriogênicos.	16
Figura 4 - Calos embriogênicos de cana-de-açúcar em fase de desenvolvimento.	17
Figura 5 - Planta regenerada in vitro a partir de calos embriogênicos.	18
Figura 6- Processo de transformação genética de plantas, utilizando fragmentos foliares.	21
Figura 7- Evolução da produtividade de cana-de-açúcar no Brasil.	22

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>DESENVOLVIMENTO</b>	<b>12</b>
2.1	Fundamentos da cultura de tecidos vegetais	12
2.2	Formação e características dos calos embriogênicos de cana-de-açúcar	13
2.3	Aplicações dos calos embriogênicos de cana-de-açúcar	16
2.4	Avanços recentes e perspectivas para o futuro	19
	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>22</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>23</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Sccharum officinarum L.*) é uma espécie da família Poaceae com origem asiática, cultivada predominantemente em países tropicais e subtropicais. No Brasil, é muito utilizada para a produção do álcool e do açúcar, além da alimentação animal (Menezes et al., 2012).

Segundo Nocelli *et al.* (2017), a produção de cana-de-açúcar no Brasil teve início no século XIV, ainda no período colonial, com mudas provenientes da Ilha da Madeira, sendo entre os anos de 1520 e 1526 os primeiros registros da entrega de safras de açúcar do país na alfândega de Lisboa, em Portugal.

Já acerca do etanol, seus primeiros registros de produção são de 1970, onde o setor de combustíveis apresentou uma ascensão devido a criação do Proálcool (Programa Nacional do Álcool), visando a redução da dependência brasileira do petróleo (Nocelli et al., 2017).

Nota-se que a espécie se adaptou facilmente ao solo e clima brasileiro, o que justifica, na safra de 2023/2024, segundo o relatório da Conab de abril de 2024 (Companhia Nacional de Abastecimento), o Brasil ter produzido 713,2 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, sendo um recorde mundial e passível de manter sua posição de maior produtor de cana no mundo. A partir deste fato, observa-se que esta produção tem um papel crucial na economia agrícola, sendo considerada a mais comercializada e produzida em mais de 80 países (Heerdt, 2008).

Além disso, a cana apresenta uma elevada produção de biomassa por área cultivada, principalmente devido sua alta eficiência fotossintética. Essa espécie possui fotossíntese C4, que é mais eficiente na captura de carbono e na conversão de energia luminosa em biomassa. (Huang; Long; Singh, 2016).

As plantas C4 realizam a fotossíntese por meio de um mecanismo concentrador de carbono, o que reduz a fotorrespiração. Por isso, em condições de temperaturas elevadas, tendem a ser mais produtivas do que as plantas C3 (Gowik U, Westhoff P, 2011).

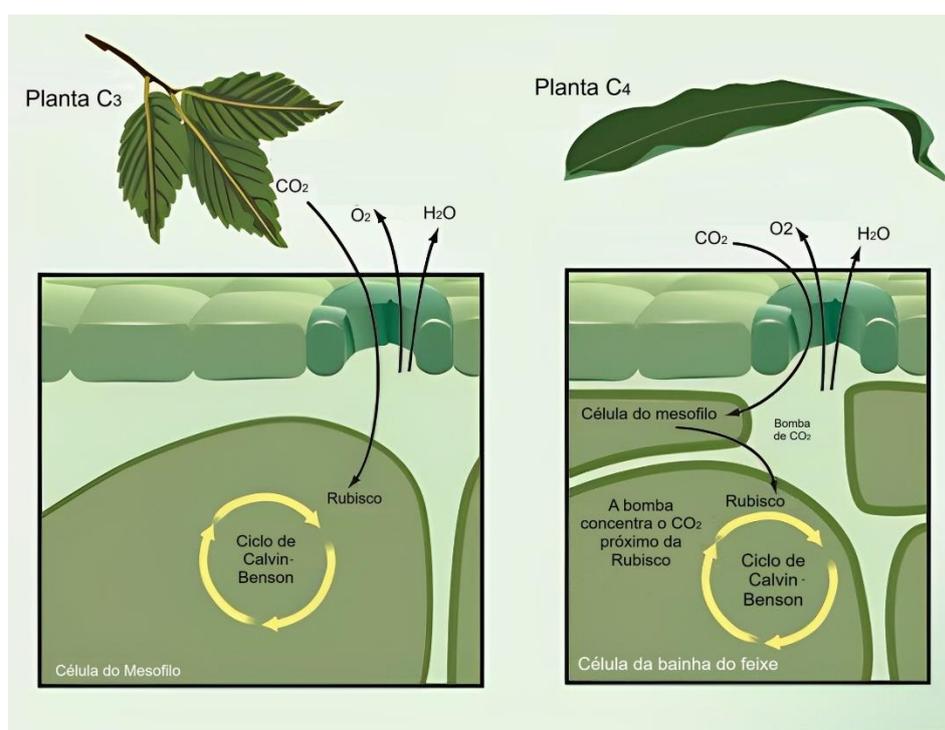
O nome "plantas C3" vem do fato de que, no início do processo de carboxilação, ocorre a formação de um composto com três átomos de carbono, o 3-fosfoglicerato. Já nas plantas C4, a primeira etapa da fixação do carbono resulta na formação de oxaloacetato, um composto com quatro átomos de carbono, seguido pela produção

de malato ou aspartato, ambos também compostos de quatro carbonos (Gowik U, Westhoff P, 2011).

Como mencionado anteriormente, as plantas C4 evoluíram em ambientes com níveis reduzidos de CO<sub>2</sub>. Além disso, o metabolismo C4 surgiu como uma adaptação a outras condições ambientais, como alta intensidade de luz, altas temperaturas e seca, o que aumenta a sua produtividade (Huang; Long; Singh, 2016).

Abaixo encontra-se um esquema que demonstra as diferenças entre plantas C3 e C4 (figura 1).

*Figura 1- Esquema ilustrativo de fotossíntese via C3 e C4. As plantas C4 são mais produtivas em altas temperaturas, graças ao seu mecanismo concentrador de carbono, que reduz a fotorrespiração.*



**Fonte:** DANELUZZI, Gabriel. 2023

Segundo a Embrapa (2024), a importância econômica desta planta associa-se aos recordes de produção e ao uso do etanol como fonte renovável de combustível, sendo relevante para a redução da pegada de carbono e da emissão de gases do efeito estufa, além de ser uma receita cambial de grande valia, chegando a 8,7 bilhões de dólares em 2020 somente no Brasil.

Visto isso, é relevante que estudos sejam realizados com o intuito de realizar

melhoramentos genéticos da cana para que as produções sejam crescentes e apresentem uma melhor qualidade. Identifica-se que este caminho elenca variedades mais resistentes a doenças, além de adaptarem-se de forma mais concisa a diferentes regiões, como nos estados do Mato Grosso do Sul e São Paulo (Mudry et al., 2013).

Neste cenário, a cana-de-açúcar apresenta características interessantes de produção a partir do cultivo de calos embriogênicos *in vitro* para melhoria de sua multiplicação de material vegetal, sendo assim pode-se mencionar a embriogênese somática, facilitadora desta multiplicação com o intuito de realizar melhorias da uniformidade da cana-de-açúcar (Melo, 2011).

A embriogênese somática, consiste em produzir embriões a partir de células e tecidos somáticos, que se desenvolvem até a formação completa da planta, passando por diversos estágios do desenvolvimento embrionário, portanto, mostra-se como um fator relevante na biotecnologia de plantas e propagação clonal da espécie (Quirino et al., 2012).

Vale mencionar que a problemática por trás do interesse pelo melhoramento genético da cana está nas questões climáticas que o mundo vivencia, como o aquecimento global desenfreado e conseqüentemente os desastres naturais decorrentes de chuvas, deslizamentos e seca prolongada, fatores estes influenciadores fortes na produção desta cultura (De Carvalho; Furtado, 2013).

Desta forma, o objetivo deste trabalho é realizar uma revisão bibliográfica nas plataformas sobre a produção e o uso de calos embriogênicos de cana-de-açúcar, com foco específico no Brasil. O estudo visa explorar a aplicação desses calos em técnicas de engenharia genética para aumentar a produtividade e resistência da planta. A pesquisa dará destaque às suas características, aplicações e aos avanços recentes nas investigações científicas realizadas no país.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 Fundamentos da cultura de tecidos vegetais

O setor agrícola tem sido muito influenciado pela propagação clonal de plantas. Neste contexto, a cultura de tecidos se destaca como uma ferramenta importante, pois permite o melhoramento genético de plantas resistentes aos fatores abióticos (temperatura, seca, frio, geada, nutrição) e bióticos (patógenos, pragas, herbívoros) (Alves et al., 2008).

A cultura de tecidos tem sua relevância na produção de plantas, servindo como uma ferramenta crucial nas técnicas biotecnológicas para o melhoramento da cana-de-açúcar. Segundo Picelli (2010), o primeiro relato do uso da cultura de tecidos é de 1969, onde calos embriogênicos foram utilizados para produção de plantas pelos cientistas Heinz e Mee.

Este método pode ser definido como uma reunião de técnicas que visam o isolamento de um explante da planta, seja este um tecido, célula ou órgão, que deve ser cultivado em determinadas condições assépticas e em um meio nutricional adequado, visando a produção de novas plantas ou a sua multiplicação (Pasqual; Chalfun; Ramos, 2001).

A produção de plantas por meio da cultura de tecidos pode ocorrer principalmente por duas vias morfogênicas, sendo a primeira a organogênese, onde há uma formação de órgãos vegetais (brotos, raízes) a partir do explante, com o desenvolvimento do tecido vascular que se conecta ao tecido de origem, e a segunda denominada embriogênese, onde as células se diferenciam e se organizam para formar embriões somáticos. Tanto a organogênese, quanto a embriogênese somática podem ocorrer por vias diretas ou indiretas. Na via direta, a formação de órgãos ou embriões ocorre diretamente a partir das células do explante, sem a necessidade de uma fase intermediária de calos. Já na via indireta, o processo começa com a formação de calos, que são massas de células indiferenciadas. Esses calos, uma vez formados, são transferidos para um meio de cultura que induz a formação de órgãos ou embriões (Barbosa, 2010).

Diante disso, é relevante associar este conceito à agricultura, afinal o setor necessita que plantas de ótima qualidade estejam prontas para uso em um curto

espaço de tempo. Ainda, é importante que essas plantas sejam mais resistentes a doenças e mudanças climáticas, adaptando-se facilmente a qualquer situação, evitando que a produção seja reduzida e prejudique a economia do país (Moraes et al., 2017).

Diante deste fato, o uso de calos embriogênicos demonstra ser um meio efetivo para resolver esses fatores, associados à produção de cana-de-açúcar, onde esta está cada vez mais acelerada devido ao fato da escala da produção de combustíveis e açúcar ter sido exponencial nos últimos anos (Moraes et al., 2017; Picelli, 2010).

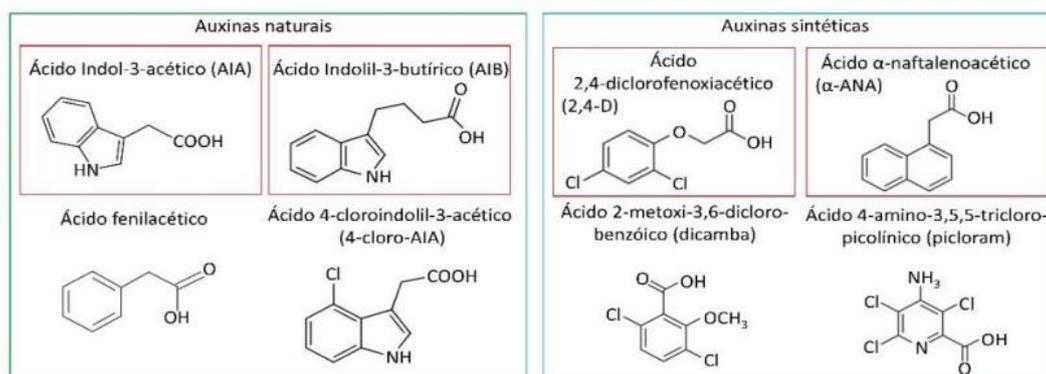
Em cana-de-açúcar, os explantes para formação de calos, normalmente, são retirados de folhas jovens, próximos ao meristema, denominados palmitos, geralmente com 6 e 15 meses de idade, seccionados em formatos de discos (Jesus, 2014).

Para esta cultura, a obtenção de calos comumente é dada a partir dos segmentos das folhas imaturas da cana colocadas em contato com meio de cultura contendo reguladores de crescimento, como contendo auxinas (Por exemplo, 2,4-D, Dicamba ou Picloran) (Heerd, 2008).

As auxinas são fitohormônios, também conhecidos como hormônios vegetais, que desencadeiam respostas em níveis gênicos, metabólicos e anatômicos nas plantas. Elas podem ser encontradas na forma natural, produzidas pelas plantas por vias biossintéticas, e na forma sintética, que são desenvolvidas em laboratório. Conhecer essas substâncias é importante, pois algumas são usadas em maiores quantidades em testes laboratoriais para induzir a organogênese (CHAN et al., 2022).

Em laboratório, utiliza-se com frequência o ácido indol-3-acético (AIA) e o ácido indolil-3-butírico (AIB) na forma natural, enquanto os ácidos 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e  $\alpha$ -naftalenoacético ( $\alpha$ -ANA) são exemplos de auxinas sintéticas (CHAN et al., 2022). Vale ressaltar que alguns protocolos de aplicação *in vitro* ou *ex vitro* de auxinas podem empregar outras substâncias, como indicado na figura 2.

*Figura 2 - Exemplos de auxinas naturais e sintéticas.*



Fonte: Adaptado de Kerbauy, 2008

Assim como para a maioria das variedades, o meio de cultura Murashige e Skoog (MS) é amplamente utilizado no cultivo de cana-de-açúcar *in vitro*, devido à sua composição equilibrada de sais e vitaminas essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas (De Jesus, 2010).

Segundo o trabalho de Melo (2011), além das folhas imaturas, pode-se utilizar como explantes as inflorescências imaturas, meristemas apicais e ápices caulinares para a produção de plantas por embriogênese somática. Esses explantes permitem a formação eficiente e rápida de calos embriogênicos, desde que sejam manipulados com um balanço adequado de reguladores de crescimento, especialmente auxinas e citocininas. Esse método é eficaz na indução e desenvolvimento de embriões somáticos, facilitando a produção de plantas com características desejadas.

O uso destas técnicas permite a obtenção de mudas livres de patógenos e vírus que podem comprometer a produção da planta, além da possibilidade de produção em larga escala e em locais de difícil adaptação natural (Heerd, 2008).

## 2.2 Formação e características dos calos embriogênicos de cana-de-açúcar

Os calos embriogênicos são caracterizados por apresentarem um aspecto compacto, duro e coloração amarelada, porém os não embriogênicos tendem a apresentar-se de forma macia, brilhantes e com coloração translúcida (Melo, 2011).

Vale mencionar que os calos embriogênicos apresentam células de formato isodiamétrico, com núcleo e citoplasma e denso, além de se desenvolverem rapidamente formando plantas. Os calos não embriogênicos demonstram características diferenciadas, como células dispersas, longas e baixa relação do

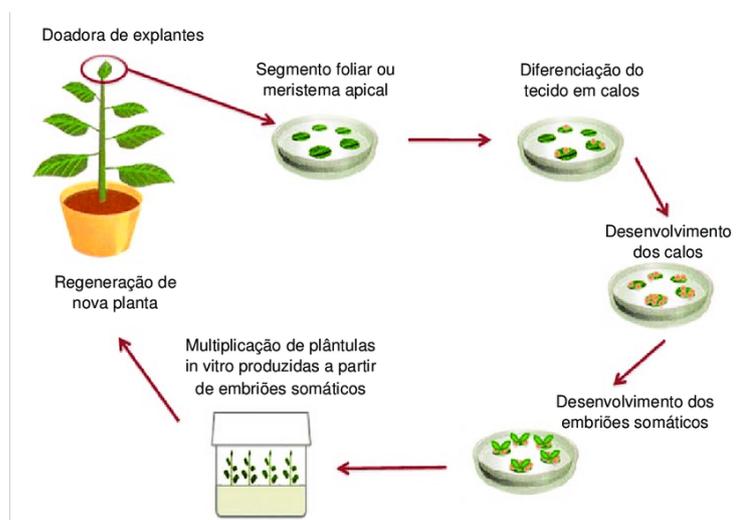
núcleo (Fim, 2012; Silveira et al., 2013).

Ainda, os calos embriogênicos apresentam características citológicas como núcleo predominante e alta atividade metabólica, já os não embriogênicos apresentam um citoplasma com poucos grânulos de amido, impactando diretamente na atividade metabólica do calo (Macedo, 2010).

A embriogênese indireta é utilizada para formação de embriões de cana-de-açúcar a partir de calos, sendo geralmente mais eficiente que a organogênese. O princípio da embriogênese somática está na maneira como os embriões são formados, não sendo oriundos de cruzamentos de gametas, logo, o genótipo formado torna-se idêntico a planta matriz utilizada no processo. Ainda, esta técnica pode ocorrer de forma natural ou *in vitro*, onde o segundo caso é mais utilizado devido a indução das células do tecido embrionário, visando que estas recebam estímulos químicos e ambientais modificando suas características genéticas, consequentemente melhorando a cana-de-açúcar no campo, a partir da resistência a doenças como a broca (Heerdt, 2008; Jesus, 2014).

Abaixo encontra-se um processo hipotético de regeneração de plantas a partir de calos embriogênicos (figura 3). Primeiro, é retirado um segmento foliar ou meristema apical da planta doadora de explantes. Em seguida, o tecido se diferencia em calos, que são massas de células indiferenciadas. A partir desses calos, desenvolvem-se embriões somáticos, os quais são multiplicados *in vitro*. Por fim, essas plântulas regeneradas a partir dos embriões somáticos são utilizadas para regenerar novas plantas.

Figura 3 – Processo de regeneração de plantas a partir de calos embriogênicos.



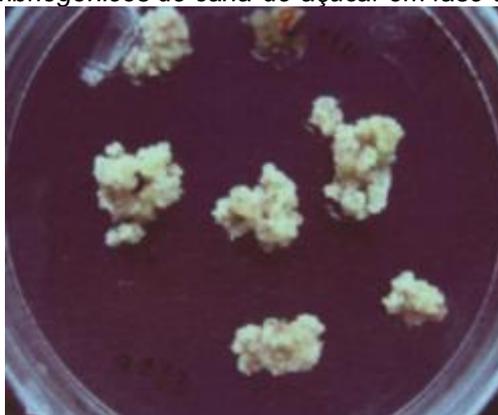
**Fonte:** Cançado et al. (2013).

O estudo de Lima *et al.* (2001) disserta acerca do uso da embriogênese, onde inúmeros calos foram utilizados com o objetivo de produção da cana-de-açúcar, porém somente a espécie RB739735 obteve sucesso, regenerando cerca de 70% das plantas. Além disso, há um destaque para o uso da auxina 2,4-D como reguladora de crescimento, apresentando ótimos resultados quando utilizada para a indução de calos embriogênicos e na melhoria da relação dos genótipos no meio de cultura (Jesus, 2014).

Já a organogênese, realizada em processos *in vitro*, tem o intuito de formar brotos e raízes a partir de outros tecidos, podendo ainda ser realizada de forma direta ou indireta. Para o primeiro caso, têm-se que a técnica é realizada a partir de um explante proveniente da planta matriz selecionada, logo os novos brotos são obtidos sem a formação de calos, a partir de tecidos não meristemáticos, porém este caso é de extrema dificuldade, pois depende da influência da parte da planta originária escolhida e de um balanço hormonal preciso. No segundo caso há a utilização de uma via indireta para o processo, havendo a formação de células não organizadas (calos), sendo estes favorecidos pelo meio de cultura utilizado, além do uso de reguladores de crescimento para que as raízes e brotos se desenvolvam (Jesus, 2014). O estudo de Almeida (2011), disserta acerca desta técnica, com o uso de Cinetina como regulador de crescimento, obtendo formação de brotos para a espécie RB8855156.

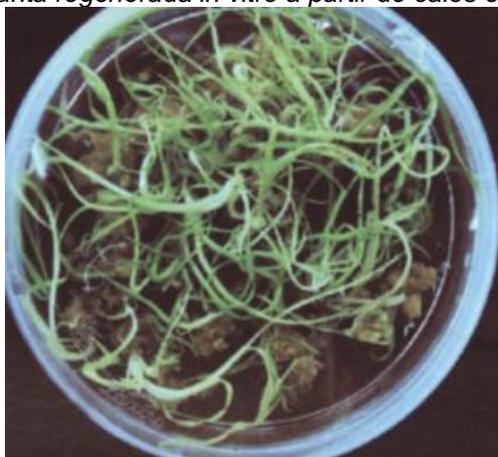
Segundo Suprasanna *et al.* (2005), a formação de calos pode assim, ser observada após 2 semanas de indução dos explantes, sendo em seu estudo observados em regiões aquosas e mucilaginosas da cana-de-açúcar. Na figura 4 é possível observar a formação de calos embriogênicos e na figura 5 a planta já regenerada.

Figura 4 - Calos embriogênicos de cana-de-açúcar em fase de desenvolvimento.



Fonte: Suprasanna *et al.* (2005).

Figura 5 - Planta regenerada *in vitro* a partir de calos embriogênicos,



Fonte: Suprasanna *et al.* (2005).

### 2.3 Aplicações dos calos embriogênicos de cana-de-açúcar

As primeiras tentativas de mudanças genéticas em canas comerciais começaram, no Brasil, em 1901 em Pernambuco e em 1918 no estado do Rio de Janeiro, sendo os primeiros cruzamentos efetivos em São Paulo na década de 1930 dando origem a variedade IAC36-25 (Carvalho; Furtado, 2013).

Porém, a cana-de-açúcar modificada pela micropropagação começou de fato a ser comercializada no Brasil somente na década de 1980, objetivando produzir plantas com alta fitossanidade, porém é relevante que estudos sejam realizados, afinal esta técnica pode gerar variações somaclonal. (Moraes *et al.*, 2017).

Os métodos tradicionais de melhoramento da cana-de-açúcar buscam criar novas variedades híbridas que apresentem maior produtividade e teor de açúcar. No entanto, o processo enfrenta grandes desafios devido à complexidade genética das

variedades híbridas, que possuem um número variável de cromossomos (entre 53 e 143) e um genoma estimado em 10 Gb. Além disso, o melhoramento convencional é um processo caro, demorado e que exige muito trabalho, podendo levar de 10 a 15 anos para o lançamento de uma nova variedade de elite (Kumar et al., 2024).

Além disso, o cultivo da cana-de-açúcar é impactado por uma série de fatores bióticos e abióticos, como a presença de ervas daninhas, doenças, ataques de insetos, pragas, seca, salinidade, temperaturas baixas, metais pesados e baixa fertilidade do solo. Para enfrentar esses desafios e evitar perdas na produtividade, a engenharia genética e a edição do genoma se destacam como ferramentas importantes. A tecnologia transgênica permite a transferência precisa de genes de plantas não relacionadas ou de organismos diferentes, proporcionando melhorias específicas (Kumar et al., 2024).

A modificação genética da cana-de-açúcar é uma ferramenta poderosa, pois permite adicionar características como resistência a patógenos e doenças em variedades comerciais, melhorando seu desempenho agrônomico e aumentando a produção de açúcar (Gomes Junior, 2012).

Existem várias técnicas de transformação genética de plantas, que podem ser classificadas em duas categorias: transferência indireta e direta de genes. Na transferência indireta, o DNA exógeno é inserido no genoma por meio de um vetor biológico. Já a transferência direta utiliza processos físico-bioquímicos para introduzir o DNA no genoma da planta (González, 2002).

Os principais métodos usados para transformação de cana-de-açúcar com são eletroporação, bombardeamento de partículas (biobalística) e transformação mediada por *Agrobacterium*. No entanto, os métodos diretos, como o biobalística e a eletroporação, têm algumas desvantagens, como dificuldades na reprodução dos resultados, variação no número de cópias de transgenes e instabilidade do material genético no novo hospedeiro. Em comparação, a transformação mediada por *Agrobacterium* oferece vantagens em relação a essas tecnologias, tornando-se uma opção mais eficaz para a entrega de genes (Wang et al., 2017).

*Agrobacterium tumefaciens* é uma bactéria Gram-negativa que vive na rizosfera das plantas e pode causar doenças como a "Galha da Coroa" em *A. tumefaciens* e a síndrome das raízes em cabeleira em *A. rhizogenes*. Essas bactérias possuem plasmídeos Ti e Ri, que contêm T-DNA (transfer DNA) que, quando transferido para o genoma da planta, provoca a formação de tumores. A transferência de genes ocorre

quando *A. tumefaciens* é ativada por compostos fenólicos liberados pelas plantas em ferimentos, ativando os genes de virulência do plasmídeo Ti. O T-DNA é cortado e associado a proteínas que facilitam sua entrada no núcleo da célula vegetal, onde é integrado ao genoma com a ajuda de proteínas de reparo e recombinação. O T-DNA também carrega genes que regulam o crescimento da planta e produzem opinas, que são nutrientes para a bactéria. Esses princípios são usados para desenvolver vetores de transformação genética, permitindo a inserção de genes de interesse em diversas espécies dicotiledôneas (González, 2002).

Apesar dos avanços nas técnicas de transformação genética, o local onde o DNA exógeno se integra ao genoma da planta e o número de cópias inseridas ainda são imprevisíveis. Em geral, as moléculas de DNA se inserem de forma aleatória no genoma, embora haja indícios de que isso ocorra em regiões com alta atividade transcricional.

O número de cópias dos transgenes inseridos pode variar conforme a metodologia utilizada na transferência de genes. Nos métodos diretos, é comum a inserção de múltiplas cópias, além da fragmentação e recombinação do transgene. Já a transformação mediada por *Agrobacterium* é considerada mais precisa, com a integração de uma ou poucas cópias no genoma da planta (Santarém, 2000).

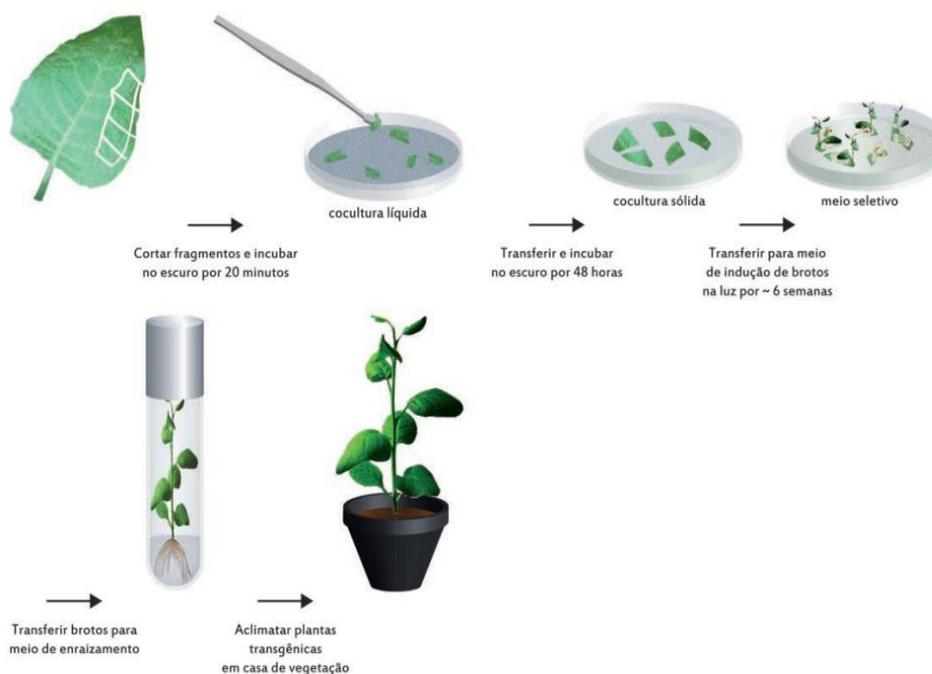
O protocolo básico para transformação genética envolve o cultivo simultâneo de um explante vegetal com uma linhagem desarmada de *Agrobacterium* sp., contendo o vetor com o(s) gene(s) a ser(em) inserido(s). A escolha do explante depende de sua capacidade de regeneração *in vitro*, podendo ser uma boa alternativa o uso de calos embriogênicos. Para induzir a transferência de genes, é essencial que o explante seja ferido antes ou durante o contato com a bactéria, pois as células feridas liberam moléculas que ativam os genes de virulência da *Agrobacterium*. Durante a transformação, a bactéria se liga às células vegetais no local do ferimento, promovendo a transferência do T-DNA para o genoma da planta (Brasileiro; Carneiro, 2015).

Após a transformação, o explante é transferido para um meio de regeneração contendo antibióticos descontaminantes para eliminar as células de *Agrobacterium*, e um agente seletivo que inibe o crescimento das células não transformadas. Apenas as células transformadas, que expressam o gene marcador de seleção, conseguirão crescer no meio seletivo. Para evitar a formação de plantas quiméricas, a transferência para o meio seletivo deve ser feita rapidamente, e a pressão de seleção

deve ser mantida durante todo o processo de regeneração. Mesmo assim, alguns "escapes" (brotos não transformados que conseguem regenerar-se) podem ocorrer. Brotos resistentes ao agente de seleção são isolados e transferidos para um meio de enraizamento. Após o enraizamento, as plântulas são aclimatadas e levadas para a casa de vegetação, onde passam por análises moleculares para verificar a integração e expressão dos genes exógenos no genoma e a estabilidade da transformação (Brasileiro; Carneiro, 2015).

A figura 6 mostra um processo de transformação de plantas a partir de fragmentos foliares. Primeiro, os fragmentos são cortados e incubados no escuro por 20 minutos. Em seguida, eles são transferidos para uma co-cultura líquida, incubados no escuro por 48 horas, e depois movidos para uma co-cultura sólida. Após esse período, os fragmentos são transferidos para um meio seletivo de indução de brotos, onde permanecem por cerca de 6 semanas. Os brotos são então transferidos para tubos de enraizamento e, finalmente, as plantas transgênicas aclimatadas são levadas para casas de vegetação.

Figura 6 - Processo de transformação genética de plantas, utilizando fragmentos foliares.



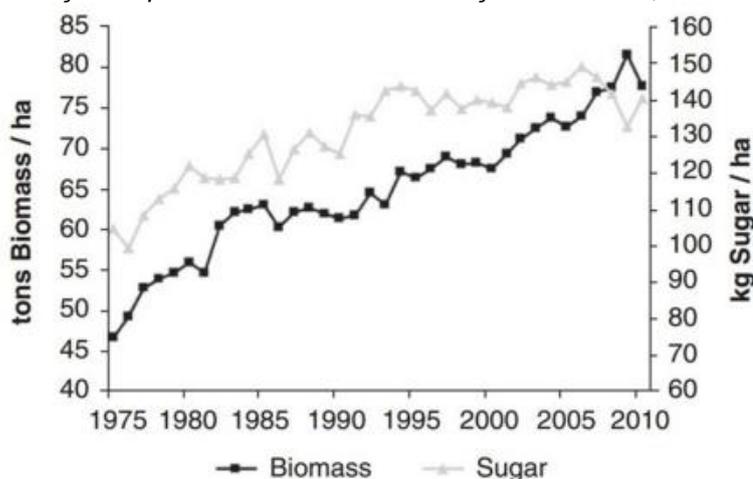
Fonte: Brasileiro, Campos (2015).

## 2.4 Avanços recentes e perspectivas para o futuro

Devido às melhorias genéticas, algumas variedades de cana-de-açúcar podem ser destacadas, como a RB867515, genótipo adaptado a condições restritivas de clima e de ambiente, sendo cultivada principalmente no estado de São Paulo, apresentando facilidade de cultivo nesse local. A RB855156 também pode ser mencionada, sendo um genótipo precoce utilizado para o aumento da safra de cana, ou seja, com esta variedade as plantações podem ser alavancadas, juntamente com a produção anual de álcool e de açúcar (Chapola *et al.*, 2014; Morais *et al.*, 2015).

Na figura 7, é possível observar como estas melhorias foram eficientes entre os anos de 1975 e 2010, momento em que as mudanças genéticas obtiveram início e ênfase, aumentando a produtividade da planta no Brasil.

Figura 7 - Evolução da produtividade de cana-de-açúcar no Brasil, entre 1975 e 2010



Fonte: Dal-Bianco (2012).

Acerca dos programas de melhoramento genético de cana-de-açúcar, pode-se mencionar o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), local este precursor da pesquisa agrícola no Brasil. O IAC priorizava inicialmente o estudo de genótipos provenientes de outros países, sendo somente na década de 1940 o início dos estudos de materiais produzidos no Brasil, resultando nas primeiras variedades de cana, como a CB41-76 e a IAC51-205. Atualmente, o instituto tem apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e desenvolve pesquisas no Cerrado brasileiro, com o objetivo de melhorar geneticamente a cana para que seja plantada neste local que apresenta um clima com altas temperaturas e solos pouco férteis (AgriShow Digital, 2022; De Carvalho; Furtado, 2013).

Outro local a ser citado é o Centro de Tecnologia Canavieira (CTC), localizado na cidade de Piracicaba, interior de São Paulo, possuindo um banco de clones de cana com cerca de 5 mil unidades. O destaque do CTC, na questão do melhoramento genético, encontra-se no interesse sobre as mudanças climáticas, ou seja, buscam o desenvolvimento de plantas que sejam resistentes a essas mudanças e se adéquam a longo prazo às alterações climáticas de cada ambiente (De Carvalho; Furtado, 2013).

A Rede Universitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (RIDESA) também tem papel fundamental no melhoramento genético, afinal é formada por várias universidades federais (UFSCar, UFPR, UFV, UFAL, UFS, UFRPE, UFRRJ) com o intuito de reunir conhecimento e mão-de-obra na busca pelo melhoramento genético da cana-de-açúcar. O aglomerado de interesse desta rede está no banco de germoplasma localizado no Alagoas, apresentando 78 variedades genéticas, além do banco presente na Serra do Ouro com cerca de 2600 genótipos. Logo, as variedades de cana são cruzadas entre si na busca das melhores condicionantes de cada espécie, obtendo uma variedade melhorada com melhor desenvolvimento e produção (Ridesa, 2024).

Vale destacar também a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), fundada em 1972, que apresenta grande relevância no desenvolvimento agrícola do Brasil. No ano de 2011, a empresa deu início ao estudo do melhoramento genético de cana, obtendo as primeiras plantas transgênicas resistentes à seca, denominadas DREB2A. Atualmente, a EMBRAPA trabalha na busca por plantas mais resistentes, além de estar em constante interesse para que a cana possa ser plantada no Nordeste sem maiores prejuízos, investindo cerca de 34 milhões de reais nessa pesquisa, visando a modificação genética da cana e a melhoria da produção (Embrapa, 2024).

Fica claro que os programas de melhoramento buscam o desenvolvimento da cana-de-açúcar com clones que apresentem alto teor de açúcar, alta produção de álcool e açúcar, além de serem saudáveis e tolerantes a qualquer ambiente, viabilizando a produção e a economia. Sendo assim, é perceptível que essas mudanças tendem a ser cada vez mais estudadas, melhoradas e implementadas nas produções de cana (De Carvalho; Furtado, 2013).

O sistema CRISPR, desenvolvido a partir dos mecanismos de defesa bacteriana, permite a edição precisa do genoma ao cortar o DNA com a enzima Cas9,

guiada por uma sequência de RNA. No sistema bacteriano, o CRISPR é composto por repetições palindrômicas e espaçadores que formam o RNA guia, direcionando a Cas9 para a sequência-alvo (ARENDR; PEREIRA; MARKOSKI,2016).

Introduzindo a proteína Cas9 e o RNA guia em células, é possível causar quebras no DNA. O organismo então utiliza seus próprios mecanismos para corrigir essas quebras, permitindo modificações precisas no genoma. Isso pode ser usado tanto para reparar mutações quanto para introduzir novas, facilitando a correção de genes e o "nocaute" gênico. Devido à sua capacidade de realizar alterações genéticas com alta precisão, o CRISPR/Cas9 tem o potencial de aumentar significativamente a eficiência da transformação genética no futuro. A tecnologia é amplamente utilizada e disponível comercialmente, com RNA guia e proteína Cas9 sendo entregues às células por vetores ou agentes químicos (ARENDR; PEREIRA; MARKOSKI,2016).

## **CONCLUSÃO**

O desenvolvimento da cana-de-açúcar no Brasil, desde os primeiros cruzamentos no início do século XX até os avanços recentes em engenharia genética, tem sido marcado por uma busca constante por melhoria na produtividade e resistência das plantas. As primeiras tentativas de melhoramento genético, como os cruzamentos em São Paulo na década de 1930, deram origem a variedades importantes como a IAC36-25. No entanto, foi apenas na década de 1980 que a micropropagação começou a ser comercializada, visando uma maior fitossanidade das plantas, embora ainda fosse necessário investigar possíveis variações somaclonais resultantes dessas técnicas.

O melhoramento convencional da cana-de-açúcar, que busca variedades híbridas com alta produtividade e teor de açúcar, enfrenta desafios devido à complexidade genética das plantas e ao tempo e custo envolvidos. A presença de fatores bióticos e abióticos adversos, como pragas, doenças, e condições climáticas extremas, impõe ainda mais desafios à produção. Nesse contexto, a engenharia genética e a edição do genoma surgem como ferramentas cruciais, permitindo a

introdução de características desejáveis, como resistência a patógenos e doenças.

Entre as técnicas de transformação genética, a transformação mediada por *Agrobacterium* se destaca pela sua precisão, embora ainda existam desafios relacionados à inserção aleatória e ao número de cópias dos transgenes. A utilização de calos embriogênicos como explantes para a transformação genética tem mostrado ser uma abordagem eficaz, fornecendo uma base sólida para o desenvolvimento de variedades de cana-de-açúcar geneticamente modificadas.

Os avanços recentes na pesquisa, como o desenvolvimento das variedades RB867515 e RB855156, demonstram a eficácia das melhorias genéticas na adaptação das plantas a diferentes condições climáticas e na otimização da produção de açúcar e álcool. Instituições como o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), o Centro de Tecnologia Canaveira (CTC), a Rede Universitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (RIDESA) e a EMBRAPA têm desempenhado papéis fundamentais na pesquisa e desenvolvimento, promovendo a criação de variedades adaptadas a condições adversas e a introdução de características desejáveis.

O sistema CRISPR/Cas9, com sua capacidade de realizar edições genéticas precisas, representa uma promessa significativa para o futuro da transformação genética de plantas. Essa tecnologia, ao permitir modificações diretas e precisas no genoma, tem o potencial de aumentar a eficiência e a eficácia das melhorias genéticas na cana-de-açúcar, oferecendo novas oportunidades para enfrentar os desafios da produção agrícola.

Em resumo, a combinação de técnicas tradicionais e modernas de engenharia genética, aliada ao avanço das pesquisas e inovações tecnológicas, continuará a desempenhar um papel crucial no desenvolvimento de variedades de cana-de-açúcar mais produtivas, resistentes e adaptadas às condições ambientais, garantindo a sustentabilidade e o crescimento da produção sucroalcooleira no Brasil.

## REFERÊNCIAS

- AGRISHOW DIGITAL. **Conheça as ações do IAC para o melhoramento genético da cana-de-açúcar.** 2022. Disponível em: <<https://digital.agrishow.com.br/cana/conheca-acoes-do-iac-para-o-melhoramento-genetico-da-cana-de-acucar>>. Acesso em: 30jul. 2024.
- ALMEIDA, Rodrigo de Oliveira. **Avaliação de sistema de remoção de gene marcador de seleção por recombinação sítio específica em *Passiflora edulis* spp., embriogênese somática e organogênese direta em *Saccharum officinarum* L.** 2011. 88 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.
- ALVES, Camilo et al. A cultura de tecidos na agricultura. **I Jornada Científica e VI FIPA do Centro Federal de Educação Tecnológica de Bambuí–CEFET-Bambuí,** 2008.
- ARENCIBIA, Ariel D. et al. New role of phenylpropanoid compounds during sugarcane micropropagation in Temporary Immersion Bioreactors (TIBs). **Plant Science**, v. 175, n. 4, p. 487-496, 2008.
- BARBOSA, André Luiz. **Cultura de tecidos e regeneração de plantas transgênicas a partir de calos embriogênicos e de folhas imaturas de cana-de-açúcar.** 2010. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.
- BRASILEIRO, Ana Cristina Miranda; CARNEIRO, Vera Tavares de Campos. **Manual de transformação genética de plantas.** 2ª ed. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-Cenargen, 2015.
- CANÇADO, Geraldo Magela de Almeida, et al., Cultivo em vitro da oliveira e suas aplicações. In: Oliveira, Adelson Francisco (Org). **Oliveira no Brasil: tecnologias de produção.** Belo Horizonte: EPAMIG, 2013. cap. 10, p. 275-310.
- CONAB. **Produção de cana-de-açúcar na safra 2023/24 chega a 713,2 milhões de toneladas, a maior da série histórica.** 2024. Disponível em: <[https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5489-producao-de-cana-de-acucar-na-safra-2023-24-chega-a-713-2-milhoes-de-toneladas-a-maior-da-serie-historica#:~:text=A%20produ%C3%A7%C3%A3o%20brasileira%20de%20cana,Nacional%20de%20Abastecimento%20\(Conab\)](https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5489-producao-de-cana-de-acucar-na-safra-2023-24-chega-a-713-2-milhoes-de-toneladas-a-maior-da-serie-historica#:~:text=A%20produ%C3%A7%C3%A3o%20brasileira%20de%20cana,Nacional%20de%20Abastecimento%20(Conab))>. Acesso em: 22 jul. 2024.
- DAL-BIANCO, Maximiller et al. Sugarcane improvement: how far can we go?. **Current opinion in biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 265-270, 2012.
- DA SILVA, Letícia Ferreira. **Propagação de cana-de-açúcar: métodos e perspectivas.** 2023. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Agronomia) – Instituto Federal Goiano, Ceres, 2023.
- DE CARVALHO, Sílvia Angélica Domingues; FURTADO, André Tosi. O

melhoramento genético de cana-de-açúcar no Brasil e o desafio das mudanças climáticas globais. **Revista Gestão & Conexões**, v. 2, n. 1, p. 22-46, 2013.

DE JESUS, Frederico Almeida. **Transformação genética de cana-de-açúcar com genes da aquaporina SspTIP1; 1 e SspPIP1; 4**. 2010. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

DI PAULI, Valentina et al. Optimized somatic embryogenesis and plant regeneration in elite Argentinian sugarcane (*Saccharum* spp.) cultivars. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 171, 2021.

EMBRAPA. **A cana-de-açúcar**. 2024. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/visao-de-futuro/trajetoria-do-agro/desempenho-recente-do-agro/cana-de-acucar#:~:text=A%20Cana%20de%20A%C3%A7%C3%BAcar,gera%C3%A7%C3%A3o%20de%20energia%20pelo%20baga%C3%A7o>>. Acesso em: 22 jul. 2024.

EMPRAPA. **Transgenia: quebrando barreiras em prol da agropecuária brasileira**. 2024. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/tema-transgenicos/sobre-o-tema#:~:text=Cana%2Dde%2Da%C3%A7%C3%BAcar-,A%20Embrapa%20Recursos%20Gen%C3%A9ticos%20e%20Biotecnologia%20investe%20no%20desenvolvimento%20de,cerca%20de%20R%24%2034%20milh%C3%B5es.>>. Acesso em: 30 jul. 2024.

FIM, Ludmila Grechi. **Estudo do crescimento celular em culturas embriogênicas e não-embriogênicas de cana-de-açúcar**. 2012. 72 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

GOMES JÚNIOR, José Edilson. **Toxinas Cry: potencial uso no controle da broca gigante da cana-de-açúcar (*Telchin licus licus*)**. 2012. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular) – Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

GONZÁLEZ, Esteban Roberto. **Transformação genética de *Eucalyptus grandis* e do híbrido *E. grandis* x *E. urophylla* via *Agrobacterium***. 2002. Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura em Genética) – Universidade Estadual Paulista, Piracicaba, Brasil, 2002.

JESUS, Maílson Vieira. **Cana-de-açúcar: embriogênese somática, organogênese e o uso de biorreatores**. 2014. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2014.

HEERDT, Eliane. **Indução da embriogênese somática em cana-de-açúcar**. 2008. 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2008.

HUANG, Haibo; LONG, Stephen; SINGH, Vijay. Techno-economic analysis of biodiesel and ethanol co-production from lipid-producing sugarcane. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 10, n. 3, p. 299-315, 2016.

KHAN, Imtiaz Ahmed; KHATRI, Abdullah. Plant regeneration via organogenesis or somatic embryogenesis in sugarcane: Histological studies. **Pakistan Journal of**

**Botany**, v. 38, n. 3, p. 631, 2006.

KUMAR, Tanweer et al. Genetic Engineering for Enhancing Sugarcane Tolerance to Biotic and Abiotic Stresses. **Plants**, v. 13, n. 13, p. 1739, 2024.

LAKSHMANAN, Prakash. Somatic embryogenesis in sugarcane—An addendum to the invited review 'sugarcane biotechnology: The challenges and opportunities,' in vitro cell. Dev. Biol. Plant 41 (4): 345–363; 2005. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 42, p. 201-205, 2006.

LAL, Mandan et al. Commercial scale micropropagation of sugarcane: constraints and remedies. **Sugar Tech**, v. 17, n. 4, p. 339-347, 2015.

LIMA, Marcelo Aguiar Costa et al. Morfogênese in vitro e susceptibilidade de calos de variedades nacionais de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) a agentes seletivos utilizados em sistemas de transformação genética. **Brazilian Journal of Botany**, v. 24, p. 73-77, 2001.

MACEDO, Amanda Ferreira. **Metabolismo de poliaminas durante a embriogênese somática de cana-de-açúcar**. 2010. 90 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

MELO, Emanuelle Ferreira. **Embriogênese somática em cana-de-açúcar e aspectos morfoanatômicos**. 2011. 75 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

MENEZES, Thays Saynara Alves et al. Embriogênese somática de variedades superiores de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **Revista GEINTEC**, v. 2, n. 1, p. 32-41, 2012.

MORAES, Emmerson Rodrigues et al. Micropropagação da cana-de-açúcar. **Colloquium Agrariae**, v. 13, n. Especial, p. 322-338, 2017.

MORAES, Márcia Azanha Ferraz Dias; BACCHI, Mírian Rumenos Piedade; CALDARELLI, Carlos Eduardo. Accelerated growth of the sugarcane, sugar, and ethanol sectors in Brazil (2000–2008): effects on municipal gross domestic product per capita in the south-central region. **Biomass and Bioenergy**, v. 91, p. 116-125, 2016.

MORAIS, Lizz Kezzy et al. **Melhoramento genético de cana-de-açúcar**. 1ª ed. Aracaju: Embrapa, 2015.

MUDRY, Clarissa Souza et al. Embriogênese somática da cultivar RB966928 e do clone RB986419 de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 3, p. 1023-1032, 2013.

NOCELLI, Roberta Cornélio Ferreira et al. Histórico da Cana-de-Açúcar no Brasil: Contribuições e importância econômica. In: FONTANETTI, Carmem Silvia; BUENO, Odair Correa. (Orgs). **Cana-de-açúcar e seus impactos: uma visão acadêmica**. Bauru: São Paulos, 2017. cap. 1, p. 13-30.

PAIVA, Renato; PAIVA, Patrícia Duarte de Oliveira. **Cultura de Tecidos**. Lavras: UFLA, 2001.

PASQUAL, Moacir; CHALFUN, Nilton Nagib Jorge; RAMOS, José Darlan. Aplicações na propagação de plantas. **Lavras: UFLA/Faepe**, 2001.

PICELLI, Eduardo da Cruz Maduro. **Cultura de tecidos e transformação genética com o gene *Ddm1* no estudo do silenciamento de elementos de transposição em cana-de-açúcar**. 2010. 141 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

QUININO, Zilna Brito de Rezende et al. Embriogênese somática em cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). **Ciclo de Palestras sobre cultivo *in vitro* de plantas**. 2012. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/68022/1/Cana.pdf>>. Acesso em: 22 jul. 2024.

RIDESA. **Melhoramento Genético da cana-de-açúcar**. 2024. Disponível em: <<https://www.ridesa.com.br/biotecnologia>>. Acesso em: 30 jul. 2024.

SANTARÉM, Eliane Romanato. Métodos eficientes para a transformação genética de plantas. **Revista da Ciência & Tecnologia, Piracicaba, SP**, v. 8, n. 15, p. 81-90, 2000.

SANTOS, Thatiana C.; ARRIGONI-BLANK, Maria de Fátima; BLANK, Arie F. Propagação e conservação *in vitro* de vetiver. **Horticultura brasileira**, v. 30, p. 507-513, 2012.

SANTOS, Janilza de Paixão et al. Indução de calos em sempre-viva (*Syngonanthus mucugensis* Giulietti), utilizando diferentes tipos de explantes e concentrações de BAP. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 30, n. 2, p. 127-131, 2008.

SILVEIRA, Vanildo et al. Morphological and polyamine content changes in embryogenic and non-embryogenic callus of sugarcane. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 114, p. 351-364, 2013.

SUPRASANNA, Penna et al. Regulation of somatic embryogenesis by plant growth regulators in sugarcane. **Sugar Tech**, v. 7, p. 123-128, 2005.

WANG, W. Z. et al. Efficient sugarcane transformation via bar gene selection. **Tropical plant biology**, v. 10, p. 77-85, 2017.

GOWIK U, WESTHOFF P. The path from C3 to C4 photosynthesis. *Plant Physiology*, vol. 155, p. 56-63, 2011.

DANELUZZI, Gabriel. Plantas C4: O que são? Agroadvance, 2023. Disponível em: <https://agroadvance.com.br/blog-plantas-c4-o-que-sao/>. Acesso em: 10 set. 2024.

BOTÂNICA no inverno 2022 / Organização Arthur Kim Chan, Carlos Eduardo V.

Raymundo, Bianca Betina Betete, Adriana dos Santos Lopes, Elielson Rodrigo Silveira, Tamara Machado Matos, Ricardo da Silva Ribeiro, Claudia Maria Furlan. São Paulo: Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2022.

ARENDR, Marcela Corso; PEREIRA, Jessica Olivaes; MARKOSKI, Melissa Medeiros. O Sistema CRISPR/Cas9 e a Possibilidade de Edição Genômica para a Cardiologia. The CRISPR/Cas9 System and the Possibility of Genomic Edition for Cardiology. Laboratório de Cardiologia Molecular e Celular - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Cardiologia) - Instituto de Cardiologia/Fundação Universitária de Cardiologia - IC/FUC, Porto Alegre, RS; Universidade do Vale do Rio dos Sinos - UNISINOS, São Leopoldo, RS; Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFCSPA, Porto Alegre, RS - Brasil.