

## MORFO-ANATOMIA E EXPRESSÃO GÊNICA NA CLONAGEM DE EMBRIÕES DE *Elaeis guineensis* x *E. oleifera*

Paula Cristina da Silva Angelo<sup>1\*</sup>, Aline Mabel Rosa<sup>2</sup>, Alison Gonçalves Nazareno<sup>3</sup>, Douglas Steinmacher<sup>4</sup>, Ricardo Lopes<sup>1</sup>, Raimundo Nonato Vieira da Cunha<sup>1</sup>, Miguel Pedro Guerra<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Pesquisadores Doutores da Embrapa Amazônia Ocidental. Rodovia AM010, km 29. CP 319. Manaus-AM. CEP 69010-970. \*paula.angelo@cmaa.embrapa.br.

<sup>2</sup>Graduanda, <sup>3</sup>Doutorando, <sup>4</sup>Pós-Doutorando e <sup>5</sup>Professor Titular do Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal da UFSC. Rodovia Admar Gonzaga,1643. Itacorubi. Florianópolis-SC. CEP 88034-000.

Hibridação interespecífica de *Elaeis guineensis* (tipo *tenera*, oriundo de cruzamento entre os tipos *pisifera* e *dura*) e *E. oleifera* e retrocruzamentos são utilizados com o intuito de obter plantas altamente produtivas, com crescimento lento do estipe, e resistência a doenças como o amarelecimento fatal. Contudo, as progênies obtidas podem apresentar variabilidade o que dificulta a análise do progresso do melhoramento. A clonagem *in vitro* de embriões zigóticos pode contribuir para a redução destes efeitos. Resultados experimentais mostraram que duas linhagens de calos submetidas a diferentes condições apresentaram morfologia “tipicamente embriogênica” e “de exaustão de capacidade embriogênica”. O presente trabalho teve como objetivo analisar anatomia e expressão gênica nestas linhagens e correlacioná-las com a morfologia. Calos das duas linhagens foram induzidos em embriões zigóticos da progênie RC585, utilizando o meio de cultura Murashige & Skoog (MS), suplementado com 2,4-D a 150 mg.L<sup>-1</sup>. Após a indução, setores embriogênicos foram transferidos para meio MS suplementado com 8,8 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D (meio de multiplicação/maturação). A linhagem 509 foi mantida assim até estocagem a -80°C. A linhagem 511B foi obtida após cultivo em meio MS suplementado com 1 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D e a posterior transferência de estruturas (“ear-like”) embriogênicas isoladas para MS com 10 µM de Picloram ou sem reguladores de crescimento. A morfologia foi examinada em microscópio estereoscópico e a anatomia foi estudada por inclusão em historesina e cortes seriados em micrótomo. A expressão dos genes *SERK* (*SOMATIC EMBRYOGENESIS RELATED KINASE*), *DEHYDRIN* e *DEFENSIN* foi avaliada nas duas linhagens por *reverse transcription-PCR*. A identidade dos *amplicons* foi confirmada por sequenciamento. O aspecto morfológico da linhagem 509 levou à sua classificação como tipicamente embriogênica, com presença de complexos poli-embrionários. Observou-se embriões maduros, com diferenciação completa da periderme e do pró-câmbio e outros em fase de organização da protoderme. Na linhagem 511B, os calos eram compactos, com presença de tricomas e raízes. Os tricomas tinham estrutura simples, havia vasos totalmente diferenciados e inclusões de fenol. Esta linhagem, embora inicialmente tenha sido similar à 509, sofria exaustão

da capacidade embriogênica, após tentativas de multiplicação e de indução da embriogênese secundária em meio de cultura com concentrações reduzidas de auxina. Foram observados, porém, resquícios de áreas meristemáticas, o que pode ser parte da explicação para a surpreendente semelhança verificada quanto à expressão da *SERK*: a aquisição da totipotência. Também não foram observadas diferenças quanto à expressão dos genes *DEHYDRIN* e *DEFENSIN*, resultado interpretado como consequência do estresse imposto pela presença do 2,4-D.

Agradecimentos: à FINEP (convênio 01.09.0073.00) e à Embrapa Amazônia Ocidental (projeto 02.09.003.05.00) pelo financiamento.