

Regeneração de Embriões *in vitro* de Híbridos de Dendezeiro

Joseane de Nazaré Oliveira Cardoso¹, Sérgio Augusto Oliveira Alves², Hérica Santos de Oliveira¹, Cândido Ferreira da Oliveira Neto³, Allan Klinger da Silva Lobato¹, Patrícia Surama Parise Maia³, Julla Naiff Rabelo de Souza Reis³, Oriel Filgueira Lemos⁴

Introdução

O dendezeiro (*Elaeis guineensis*, Jacq.) é uma planta originária da África, provavelmente no golfo da Guiné, sendo uma planta monocotiledônea (embrião assimétrico, um cotilédone) pertencente à família Arecaceae (fruto simples, folhas penadas) e gênero *Elaeis* [1]. O gênero *Elaeis* é composto de duas espécies de interesse genético: o caiaué, *Elaeis oleifera* (HBK) Cortez e o dendezeiro, *Elaeis guineensis*, Jacq. [1,2]

Segundo [3] uns dos principais problemas da planta na região Norte do Brasil é uma doença conhecida como amarelecimento fatal que causa a morte da planta ,trazendo grandes perdas na biodiversidade da espécie. A cultura de tecidos surge como uma alternativa promissora para a propagação em larga escala de plantas de dendezeiro, selecionadas a partir das melhores progênies híbridas, dentro dos programas de melhoramento genético da cultura, sendo um desafio e uma esperança para os melhoristas do dendezeiro [2]

As técnicas *in vitro* se constituem ferramentas valiosas dentro do campo genético, pois permitem a propagação rápida de plantas livres de patógenos e clonagem de material elite, regaste de embriões de cruzamentos intra e inter específicos, geração de variabilidade genética por mutações induzidas, seleção *in vitro*, produção de plantas transgênicas, dentre outras [4].

Dentre as alternativas de melhoramento genético, a obtenção de híbridos interespecíficos (caiaué x dendezeiro), apesar de apresentar produção de biomassa cerca de 20% menor que o dendezeiro, poderá se tornar a única forma de viabilizar a manutenção da espécie nas áreas afetadas por doenças como o amarelecimento fatal.

O objetivo do trabalho foi a Desenvolvimento de protocolos de resgate de embriões de sementes híbridas de dendê *in vitro*.

Material e Métodos

Os cachos de dendê foram trazidos diretamente do campo, onde foram despulpados para obtenção de sementes onde ficaram secando em temperatura ambiente. Após isso, as sementes foram trazidas para o laboratório as quais passaram

por processos de desinfestação. Em câmara de fluxo laminar os embriões foram imersos em álcool 70% por 60 segundos e solução de hipoclorito de sódio 1% por 20 minutos, sendo em seguida lavados cinco vezes em água destilada e autoclavada. Com o auxílio de pinça e bisturi foi realizada a excisão dos embriões. Foram avaliados também a porcentagem de contaminação e oxidação.

Os embriões foram cultivados em frascos de 300 ml contendo 30 ml de meio de cultura. O pH do meio foi ajustado para $5,8 \pm 0,1$ antes da autoclavagem que foi realizada por 15 minutos a 121°C e 1,3 atm. O agente gelificante utilizado foi o phytigel (0,2%). O tratamento foi constituído de 2 meios básicos (Y3 [5] e MS [6]) e suas variações, totalizando 6 tratamentos.

T1-Y3 + 0,2% carvão ativado;
T2- Y3 sem carvão ativado;
T3- MS+ 0,2% carvão ativado;
T4 – MS+ sem ativado;
T5- $\frac{1}{2}$ MS + 0,2% carvão ativado e
T6- $\frac{1}{2}$ MS+ sem carvão ativado.

A avaliação foi feita atribuindo-se notas que variam de 0 (ruim) a 6 (ótimo) conforme ilustra a Fig 1B.As notas 6 foram contabilizadas e submetidas à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas utilizando-se o teste Tukey a 5% de probabilidade e os dados foram transformados para $\sqrt{x+0,5}$. O experimento foi avaliado durante o período de 90 dias.

Resultados

Não foi verificada nenhuma contaminação nos experimentos realizados, mostrando a eficácia da assepsia adotada. O processo de oxidação foi observado apenas nos meios em que não havia carvão ativado, nas seguintes proporções: T2(10%), T4(15%) e T6(15%).

Em relação ao desenvolvimento do embrião após 14 dias foi verificado o entumescimento do embrião

1. Graduanda do ° semestre de Agronomia. Universidade Federal Rural da Amazônia. Av. Tancredo Neves, 2501, Terra Firme, Belém-PA., E-mail:josi.card@ig.com.br

2. Mestre em Botânica Tropical pelo Museu Paraense Emilio Goeldi- MPEG.Av.Tancredo Neves,Terra Firme,Belém -PA

3. Mestrando em Agronomia pela Universidade Federal Rural da Amazônia. Av. Tancredo Neves,2501,Terra Firme, Belém-PA, CEP 66077-530

4 Pesquisador da EMBRAPA/ CPATU .Travessa Enéas Pinheiro S/N. Apoio financeiro: CNPq e EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL.

(Nota 1, Fig 1B). A partir de 21 dias já foi possível notar o início da curvatura do embrião sendo que no final de 28 dias o embrião já se encontrava totalmente curvo (Nota 4, Fig 1B). Depois de 56 dias, o embrião iniciou a emissão de radícula e no final da 63 dias já apresentava caulículo e radícula totalmente formados (Nota 6,). No final dos 84 dias, a planta já estava completamente formada (Fig. 1A). Foi realizada análise de variância e teste de Tukey para todos os meios utilizados no experimento e pôde-se observar que o melhor tratamento foi o tratamento T3 (meio MS+0,2% Carvão ativado) para a obtenção de nota 6 onde o embrião formou caulículo e radícula em maior quantidade, sendo que os demais tratamentos seguidos de T4, T1, T2, T5 e T6 não diferiram significativamente entre si a nível de 5% de probabilidade (Tab1).

Discussão

É importante também analisar o efeito do carvão ativado, pois nos meios onde havia o carvão não foi verificado a presença do processo de oxidação e segundo [7] este resultado se deve a presença de cargas residuais no carvão que faz com que essas substâncias impeçam ou atenuam o processo de oxidação atuando na adsorção de metabólitos produzidos pelo explante *in vitro* como, por exemplo, os compostos fenólicos ou seus produtos da oxidação; as quinonas.

Em relação ao desenvolvimento do embrião, presença do meio MS completo suplementado com 0,2% carvão ativado foi fundamental para o desenvolvimento completo dos embriões. Esses resultados concordam com os obtidos por [7], que também obteve resultados semelhantes só que uma concentração menor de carvão ativado (0,1%). O meio MS propiciou o perfeito desenvolvimento do embrião até a planta adulta, já que obteve uma maior número de plantas com nota máxima (6). Segundo [8], o meio MS é o mais utilizado para palmeiras, obtendo resultados excepcionais no resgate de

embriões *in vitro*. Entretanto, os meios Y3 e ½ MS com ou sem carvão ativado não apresentaram o resultado esperado, visto que [4] obteve resultados bastante significativos no resgate de embriões em meio com metade da concentração (½ MS) e segundo [7] o meio Y3 com carvão ativado apresenta resultados superiores ao meio MS no resgate de embriões em palmeiras.

REFERÊNCIAS

- [1] SURRE, C.; ZILLER, R. 1969. La palmera de aceite. Editorial Blume. Colección Agricultura. 120p.
- [2] VIÉGAS, I. de J.M.; MÜLLER, A.A. 2000. A cultura do dendezeiro na Amazônia Brasileira Belém: EMBRAPA/CPATU. 374p
- [3] DUARTE, M. de L. R. 1999. Doenças de plantas no trópico úmido Brasileiro. I plantas industriais. Belém. Embrapa Amazônia Oriental, 269p.
- [4] LEMOS, O .F.P, 2003. Mutagênese e tecnologia *in vitro* no melhoramento genético de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). Piracicaba, 159p. Tese de doutorado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. [
- [5] EUWENS, C. J. 1978. Effects of organic nutrients and hormones on growth and development of tissue explants from coconut (*Cocos nucifera*) and date (*Phoenix dactylifera*) palms cultured *in vitro*. *Physiologia Plantarum*, 42: 173-178..
- [6] MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised Medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, v.15, p. 473-497..
- [7] TEIXEIRA, J.B.; SONDAHL, M.R.; KIRBY, E.G, 1993. Somatic embryogenesis from immature zygotic embryos of oil palm. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, v.34, p. 227-233.
- [8] TISSERAT, B. Palms. In: BONGA, J. M.; DURZAN, D.J. Cell and tissue culture in forestry. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1989. p.339-356

Tabela 1- Médias do número notas 6 em 90 dias em diferentes meios de cultura

Tratamentos	Médias
T(3)	0,92 A
T(4)	0,87B
T(1)	0,70B
T(2)	0,70B
T(5)	0,70B
T(6)	0,70B

Medias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de tukey ($p < 0,05$).



Figura 1-Desenvolvimento de plântulas de dendê (*Elaeis guineensis* Jacq).A) Formação da plântula de dendê *in vitro* após 84 dias. B) Diferentes estádios de desenvolvimento de embriões zigóticos de dendê.

