

# Efeito do Ácido $\gamma$ -aminobutírico (Gaba) na Embriogênese Somática de *Acca sellowiana* (Myrtaceae)

Maristela Raitz Booz<sup>1</sup> e Rosete Pescador<sup>2</sup>

## Introdução

O sucesso da iniciação e o estabelecimento de culturas de embriogênese somática dependem basicamente do tipo e da condição fisiológica do desenvolvimento dos explantes. As condições de cultivo e a composição do meio de cultura podem resultar em maior número de explantes responsivos ou na intensificação das repostas morfogênicas *in vitro*. Entre estas se pode considerar como as mais importantes: o balanço e os tipos de hormônio, os nutrientes inorgânicos associados aos diferentes tipos de nitrogênio reduzido ou oxidado, as fontes e concentração de carbono, as vitaminas, os aminoácidos, e as condições ambientais externas como luz e fotoperíodo [1].

A goiabeira serrana (*Acca sellowiana* Berg), uma Myrtaceae, é uma árvore nativa do sul do Brasil e norte do Uruguai. Esta espécie vem sendo cultivada em pomares comerciais na Nova Zelândia, na Austrália, nos Estados Unidos e alguns países europeus [2]. Apesar de ainda não domesticada em seu centro de origem, pode ser encontrada em alguns pomares comerciais nos estados de Santa Catarina e no Rio Grande do Sul.

O processo de propagação clonal desta espécie não se encontra estabelecido, apesar dos vários trabalhos encontrados na literatura destacarem a propagação vegetativa.

Pescador [3], encontrou endogenamente o ácido  $\gamma$ -aminobutírico (Gaba) nos embriões zigóticos e somáticos de *Acca sellowiana*, com valores mais acentuados nos dias subseqüentes a inoculação dos explantes. Portanto, ainda segundo a autora os teores deste aminoácido na embriogênese zigótica apresentaram-se comparativamente baixos, sendo que as maiores concentrações foram detectadas nas embriogêneses somáticas indireta e direta, principalmente nas fases iniciais de desenvolvimento do vegetal.

O Gaba é um aminoácido não protéico composto de quatro carbonos, encontrado em organismos procariontes e eucariontes. O papel do Gaba em plantas ainda não está bem definido, podendo estar envolvido tanto no desenvolvimento vegetal, como sinalizador de processos fisiológicos, quanto na defesa e em outras respostas ao estresse [4], levando a

formação de embriões somáticos.

Evidências experimentais indicam que o Gaba se acumula em vários tecidos de plantas sob diferentes condições de estresse, tais como hipoxia, choque de temperatura, acidificação citóstica, escuro, estresse hídrico (por excesso ou falta de água) e fitohormônios, no caso o 2,4-D (ácido 2,4 diclorofenoxiacético) [5].

Segundo Pescador [3], a acumulação e o real papel do Gaba no crescimento e desenvolvimento de embriões somáticos, nos períodos iniciais de *A. Sellowiana*, ainda não foram elucidados.

Faz-se necessário o estabelecimento de um padrão de referência mais preciso entre os aspectos bioquímicos e fisiológicos relacionados com as diferentes fases de desenvolvimento de embriões zigóticos e somáticos, a fim de compreender e otimizar a embriogênese somática, especialmente em plantas lenhosas, geralmente mais recalcitrantes que as plantas herbáceas.

Portanto, diante do exposto, foi realizado um estudo visando avaliar a resposta de embriões zigóticos de *A. sellowiana* submetidos a diferentes concentrações de Gaba.

## Material e métodos

As sementes de *A. sellowiana* foram obtidas de plantas cultivadas na Estação Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), localizada em São Joaquim. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biotecnologia e Micropropagação Vegetativa da FURB.

Como explantes foram utilizados embriões de sementes maduras com aproximadamente 120 dias. As sementes foram submetidas à assepsia em solução de hipoclorito de sódio 2,5%, durante 40 minutos, e três lavagens em água destilada estéril. Os embriões foram retirados com auxílio de estereomicroscópio, pinça e bisturi esterilizados, em condições de assepsia, em câmara de fluxo laminar. Os embriões zigóticos foram inoculados em tubos de ensaio (22 x 150 mm), contendo 10 mL de meio de cultura e fechados com tampas metálicas.

O meio utilizado para cultura de embriões foi o LPm [6], suplementado por 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 20  $\mu$ M de 2,4-D, 4  $\mu$ M Glutamina, 7 g.L<sup>-1</sup> de ágar e diferentes concentrações de Gaba: 0 (controle), 2, 4, 6, 8 e 10  $\mu$ M; o pH ajustado para 5,8 antes da esterilização. Os embriões inoculados foram mantidos em câmara de crescimento, na ausência de luz, em temperatura de 25  $\pm$  2° C. Foram inoculados 180

1. Graduando do Curso de Ciências Biológicas, Departamento de Ciências Naturais, Universidade Regional de Blumenau. Rua Antônio da Veiga, 140, Blumenau, SC, CEP 89012-900. E-mail: maristela.rb @terra.com.br

2. Professora do Departamento de Ciências Naturais, Universidade Regional de Blumenau. Rua Antônio da Veiga, 140, Blumenau, SC, CEP 89012-900.

Apoio financeiro: FURB.

embriões, sendo 2 embriões por tubo, sendo considerado 15 repetições por tratamento.

Os parâmetros avaliados foram, o número de embriões nos estádios ontológicos, globulares, cordiformes, torpedos e cotiledonares, observados aos 16 e 34 dias da inoculação. Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância e ao teste de separação de médias Tukey a 5%.

## Resultados e Discussão

No presente trabalho, 100 % dos embriões zigóticos inoculados no meio de cultura formaram embriões somáticos. Pode-se afirmar que o meio de cultura suplementado com o Gaba foi eficiente na formação de embriões somáticos, visto que, decorridos 16 dias de inoculação todos os tratamentos induziram a formação de embriões somáticos. O destaque especial deveu-se ao tratamento com 10  $\mu$ M de Gaba, o qual, realçou significativamente o percentual de formação embriões somáticos globulares (fig. 1). O tratamento com 8  $\mu$ M de Gaba foi o único em que se observou a formação de embriões na fase torpedo, representando 7% dos embriões totais formados. Dal Vesco & Guerra [7] também observaram um aumento significativo na porcentagem de indução da embriogênese somática de *A. sellowiana*, sendo este aumento relacionado à suplementação dos aminoácidos glutamina, asparagina ou arginina ao meio de cultura. Segundo estes autores, o nitrogênio proveniente dos aminoácidos é rapidamente assimilado e incorporado aos esqueletos carbônicos durante o metabolismo e a síntese de proteínas, quando comparado a outras fontes inorgânicas de nitrogênio.

A Fig. 2 mostra que após 34 dias de cultivo já foi possível identificar todas as fases de desenvolvimento embrionário, globular, cordiforme, torpedo e cotiledonar, nos materiais vegetais submetidos aos diversos tratamentos. Constata-se que maiores concentrações suplementares de Gaba levaram a formação de um maior número de embriões somáticos, mesmo não apresentando diferenças estatísticas significativa entre os tratamentos.

Kamada & Harada [8] evidenciaram aumento dos aminoácidos totais, especialmente do Gaba, durante a proliferação celular e formação de embriões somáticos em culturas de cenoura (*Daucus carota*). Como não

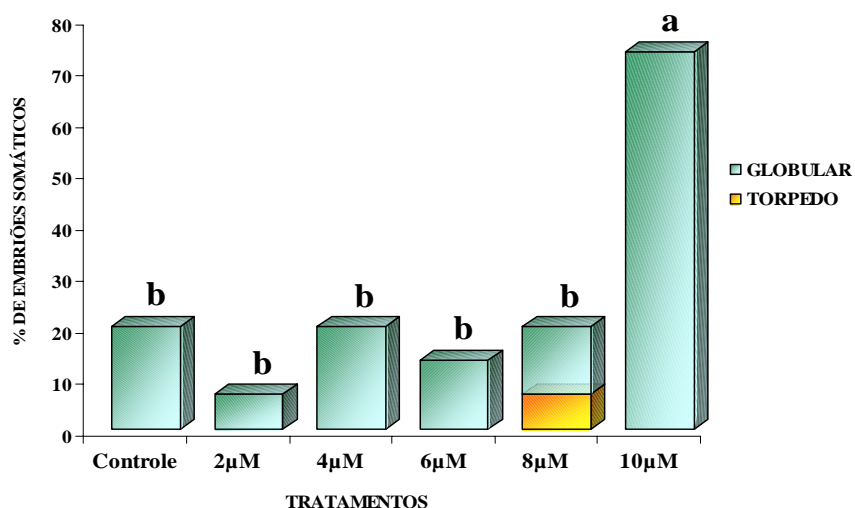
ficando evidente a associação do Gaba com a embriogênese, os autores adicionaram o Gaba no meio de cultura, porém não observaram efeito significativo quanto a embriogênese somática na cenoura.

A importância de aminoácidos no meio de cultura varia com a espécie considerada, tipo de explante ou resposta morfogênica desejada [9]. A adição de aminoácidos ao meio de cultura pode inibir ou promover o desenvolvimento da embriogênese somática [10].

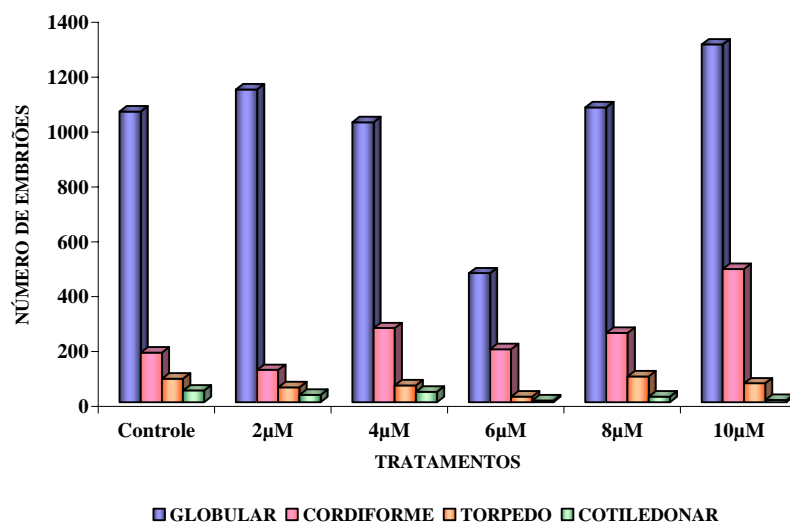
Os resultados alcançados com *A. sellowiana* mostram viabilidade do uso de suplementação de 10  $\mu$ M de Gaba no meio de cultura de indução da embriogênese somática desta espécie. Porém, novos trabalhos devem ser realizados visando utilizar o Gaba como contribuinte adicional para aumento da taxa de conversão de embriões somáticos em plantas.

## Referências

- [1] GUERRA, M.P.; TORRES, A.C.; TEIXEIRA, J.B. 1999. Embriogênese somática e semente sintética. In: TORRES A.C. CALDAS, L. S. & BUSO, J. A. (eds). *Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas*. Brasília: Embrapa-SPI/CNPQ, 2: 533-568.
- [2] DUCROQUET, J.P.H.J.; HICKEL, E.R. 1997. Birds as pollinators of feijoa (*Acca sellowiana* Berg). *Horticulture*, 452: 37-40.
- [3] PESCADOR, R. 2004. *Aspectos fisiológicos-estruturais das embriogêneses zigótica e somática de Feijoa sellowiana Berg (Myrtaceae)*. Tese de Doutorado, Curso de Pós-graduação em Botânica, USP, São Paulo.
- [4] BOWN, A.W. & SHELPS, B.J. 1997. The metabolism and functions of  $\gamma$ -aminobutyric acid. *Plant Physiol.*, 115: 1-5.
- [5] SNEDDEN, W. A. & FROMM, H. 1998. Calmodulin, calmodulin-related proteins and plant responses to the environment. *Trends Plant Science*, 3: 299-309.
- [6] VON ARNOLD, S & ERIKSSON, T. 1981. In vitro studies of adventitious shoot formation in *Pisum cordata*. *Canadian Journal of Botany*. 59: 870-874.
- [7] DAL VESCO, L.L. & GUERRA, M.P. 2001. The effectiveness of nitrogen sources in feijoa somatic embryogenesis. *Plant, Tissue and Organ Culture*, 64:19-25.
- [8] KAMADA, H. & HARADA, H. 1984. Changes in endogenous amino acids compositions during somatic embryogenesis in *Daucus carota*. *Plant Cell Physiology*. 25:27-38.
- [9] GEORGE, E.F. 1993 *Plant propagation by Tissue culture. Parte 1 - The Technology*. England: Exegetics Edington. 554p.
- [10] MERKLE, S.A.; PARROTT, W.A. & FLINN, B.S. 1995. *Morphogenic aspects of somatic*. In: THORPE, T.A. (Eds). *In vitro embryogenesis in plant*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. p.155-203.



**Figura 1.** Percentual de embriões zigóticos de *A. sellowiana* que formaram embriões somáticos, nas fases de desenvolvimento, globular e cordiforme após 16 dias de inoculação em meio de cultura com diferentes concentrações de Gaba. Letras diferentes, nas colunas mostram diferença estatística significativa segundo Tukey ( $p = 0,05$ ).



**Figura 2.** Número de embriões somáticos de *A. sellowiana* nas fases de desenvolvimento globular, cordiforme, torpedo e cotyledonar, após 34 dias de inoculação em meio de cultura com diferentes concentrações de Gaba.