

## Influência do ácido giberélico e do meio de cultura na germinação in vitro de embriões imaturos da tangerineira ‘Cleópatra’

Denise dos Santos Vila Verde<sup>1</sup>; Maria Inês de Souza Mendes<sup>2</sup>; Camila Rodrigues Pinto<sup>3</sup>; Leila Vasconcelos Costa Nobre<sup>3</sup>; Antônio da Silva Souza<sup>4</sup>; Walter dos Santos Soares Filho<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Mestranda em Ciências Agrárias, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, denisevilaverde@hotmail.com;

<sup>2</sup>Doutoranda em Genética e Biologia Molecular, Univesidade Estadual de Santa Cruz, inesm.123@gmail.com;

<sup>3</sup>Estudante de Licenciatura em Biologia, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, camilarodrigues80@hotmail.com; leilacosta11@hotmail.com

<sup>4</sup>Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, antonio.silva-souza@embrapa.br, walter.soares@embrapa.br

Nas sementes poliembriônicas de citros ocorre à formação de embriões nucelares, com características idênticas à planta mãe, e do embrião zigótico, que é o indivíduo híbrido. O sucesso no resgate e cultivo in vitro de embriões zigóticos é influenciado, principalmente, pelo estágio de desenvolvimento em que o embrião é excisado, e pela composição do meio de cultura. Dessa forma, as técnicas de cultivo in vitro de embriões imaturos de citros, visam a obtenção do indivíduo zigótico, que tende a abortar com a maturação da semente, pois ocorre uma competição com os embriões nucelares, que são mais numerosos e vigorosos. Assim, o objetivo deste trabalho foi definir um protocolo para excisão de embriões imaturos de citros, visando a restrição da poliembrionia, por meio da retirada dos embriões nos estádios iniciais de desenvolvimento e cultivo nos meios MS e WPM, acrescidos de concentrações de ácido giberélico (AG<sub>3</sub>). Este trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia. Foram coletados frutos da tangerineira ‘Cleópatra’ no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de citros dessa Instituição, com diâmetros entre 20 mm e 40 mm. As sementes foram retiradas e logo depois desinfestadas em câmara de fluxo laminar com uma solução de etanol 70% por 5 minutos e, posteriormente, em hipoclorito de sódio a 0,5% contendo duas gotas de Tween 20®, por 20 minutos, seguido de três lavagens em água tipo II autoclavada, para eliminar o excesso de hipoclorito. Foram instalados dois experimentos, um com o meio MS e o outro com o WPM, ambos em delineamento inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 4 x 5, correspondendo a quatro estágios de desenvolvimento dos embriões (<1,0 mm; 1,0 mm - 1,9 mm; 2,0 mm - 2,9 mm; >2,9 mm) e cinco concentrações de AG<sub>3</sub> (0 mg.L<sup>-1</sup>; 0,1 mg.L<sup>-1</sup>; 0,4 mg.L<sup>-1</sup>; 0,7 mg.L<sup>-1</sup> e 1,0 mg.L<sup>-1</sup>), com 10 repetições por tratamento, cada parcela representada por um embrião cultivado em um tubo de ensaio. Os embriões foram cultivados sob condições controladas em sala de crescimento, com temperatura de 27 ± 1 °C, densidade de fluxo de fótons de 30 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas. Após 30 dias da instalação do experimento, foi realizada a contagem do número de embriões germinados. No meio MS, a porcentagem de germinação variou de 30% a 100%, sendo que houve 100% de germinação nos embriões de 2,0 mm - 2,9 mm cultivados na ausência do AG<sub>3</sub>, nos embriões de 1,0 mm - 1,9 mm no meio com 0,1 mg.L<sup>-1</sup>, no tamanho 1,0 mm - 1,9 mm e nos de tamanho >2,9 mm na dose de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub>. O menor índice de embriões germinados, 30%, ocorreu no tratamento com embriões <1,0 mm na concentração de 0,4 mg.L<sup>-1</sup>. Nas demais doses, as taxas de germinação variaram de 70% a 90%. No meio WPM houve germinação de 100% na ausência do AG<sub>3</sub> nos embriões de 2,0 mm - 2,9 mm e >2,9 mm, nos embriões de 1,0 mm - 1,9 mm e >2,9 mm cultivados na concentração de 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub>; nos embriões >2,9 mm em meio com 0,7 mg.L<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub> e nos embriões das faixas de 1,0 mm - 1,9 mm e 2,0 mm - 2,9 mm na presença de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> do ácido giberélico. Não houve germinação nos embriões <1,0 mm, em ausência de AG<sub>3</sub>, enquanto nas demais concentrações os valores de germinação variaram entre 30% e 90%. O percentual de embriões germinados, independente da dose de AG<sub>3</sub>, foi de 79,5%, no meio MS, e de 80,5%, no meio WPM. Considerando a maior importância na utilização de embriões <1,0 mm para a obtenção do indivíduo zigótico, tanto no MS como no WPM houve maior percentual de germinação na concentração de 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub>, sem haver diferenças consideráveis entre os dois meios.

**Significado e impacto do trabalho:** Estabelecer um protocolo de cultivo in vitro de embriões imaturos é de fundamental importância para o resgate de indivíduos híbridos, especialmente para testes posteriores como porta-enxertos, haja vista que sua obtenção se torna mais difícil a partir de sementes poliembriônicas e em estádios mais avançados de desenvolvimento. Esses novos indivíduos também aumentaria a base genética existente entre as espécies de citros.