

Influência da concentração de 2iP no meio de cultura, sobre a embriogênese somática em inflorescência de tamareira (*Phoenix dactylifera* L.)

Silvio Lopes Teixeira¹ e Juliana Martins Ribeiro²

¹Engenheiro Agrônomo, PhD, Bolsista de Desenvolvimento Científico Regional da FACEPE/CNPq, Petrolina, PE. E-mail: teixeira70@yahoo.com.br

²Bióloga, D.Sc., pesquisadora da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE. E-mail: juliana.ribeiro@embrapa.br

Introdução

A tamareira é uma palmeira produtora de frutos comestíveis cultivada em larga escala nos países do Oriente Médio como alimento de subsistência. É uma planta com elevada tolerância à seca, adaptada a condições de clima desértico, portanto, adaptadas a temperaturas elevadas e baixa umidade relativa do ar, podendo o lençol freático estar a grande profundidade (Chao & Krueger, 2007). Além disso, apresenta bom desenvolvimento em terrenos arenosos, salinizados e alta luminosidade, fatores que a tornam uma cultura com potencial para ser explorada na região nordeste do Brasil (Costa & Aloufa, 2010).

A Embrapa Semiárido em Petrolina possui uma preciosa coleção de tamareiras, que se apresentam em idade avançada e, em função disto, não mais emitem rebentos, que constituem forma convencional de sua clonagem, dificultando sua propagação.

Diante do exposto, existe a necessidade de otimizar uma técnica eficiente para a multiplicação das plantas em escala compatível com a necessidade e a importância do problema. Uma alternativa com grande potencial é a clonagem *in vitro*, através de tecidos de inflorescência jovem (Abul-Soade & Mahdi, 2010), o que é proposto por este projeto.

Material e Métodos

A espata ainda fechada foi coletada da matriz feminina (Figura 1 A e B), foi lavada em água corrente, esfregada com esponja embebida em álcool 70% (Figura 1 C), enxaguada com solução hidroclorada a 0,5%, adicionada de 1 gota de Tween 20/100mL de solução (Figura 1 D) e flambada (Figura 1 E). Em seguida, a espata foi aberta, os ráculos foram retirados, imersos por 15 minutos em solução hidroclorada, de mesma concentração citada, seguida de três enxágues em água autoclavada e deionizada (Figura 1 F, G e H). Finalmente, os ráculos foram seccionados transversalmente em segmentos de cerca de 1 cm de comprimento, contendo de uma a três gemas, que foram colocados em meio de cultura acondicionado em tubos de ensaio de polipropileno, de 25 x 80mm, à base de 20ml/tubo de ensaio.

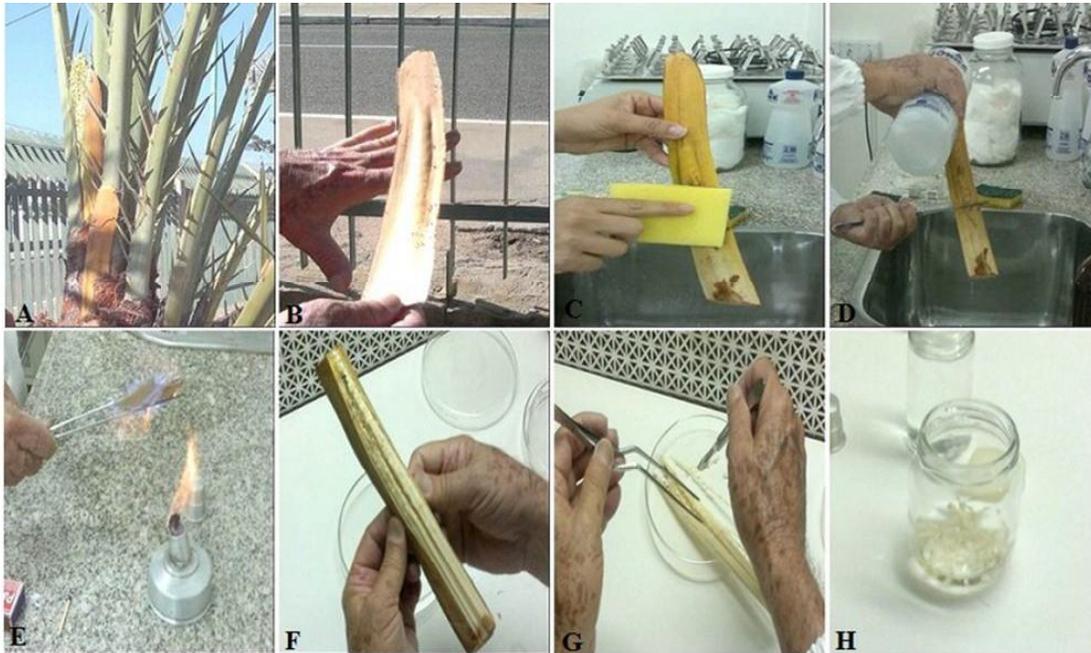


Figura 1. Etapas envolvidas na obtenção de explantes de inflorescências de tamareira. **A e B:** coleta da espata; **C, D e E:** desinfestação da espata antes da entrada na capela de fluxo laminar; **F, G e H:** retirada dos ráncimos do interior da espata e desinfestação dos mesmos em solução de hipoclorito de sódio 0,5% (interior da capela de fluxo laminar).

O meio nutritivo consistiu na formulação de sais de MS (Murashige e Skoog, 1962), adicionado de 170mg/L NaH_2PO_4 , 1mg/L vitaminas de White, 40mg/L sulfato de adenina, 0,002mg/L L-glicina, 100mg/L de 2,4-D, 3mg/L 2iP, 3g/L carvão ativado, solidificado com 6g/L de agar VETEC, e pH $5,7 \pm 0,1$. Antes da inoculação dos explantes, os frascos de cultura contendo o meio nutritivo foram autoclavados a 121°C , 1,05atm, por 20 minutos.

Após inoculados com os explantes, os frascos de cultura foram instalados em sala de crescimento, no escuro, com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, sendo recultivados, durante todo o período de incubação, para novo meio de mesma composição, a cada 20-30 dias. Foram testadas as seguintes concentrações de 2iP (y-y-dimetilalilaminopurina): 0,0 - 0,3 - 0,6 - 1,2 - 2,4mg/L.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (concentrações de 2iP), cinco repetições, e a parcela composta por quatro tubos de ensaio com cinco explantes cada. O experimento foi observado semanalmente para a verificação do tratamento responsável pela formação de embriões.

Resultados e Discussão

Os botões florais iniciaram o entumescimento após uma semana e continuaram a aumentar progressivamente, conforme esperado. Após cerca de

4 meses, as sépalas já se encontravam em estado de escurecimento gradativo, embora já se observasse início de calejamento não embriogênico em algumas culturas do tratamento 2,4mg/L de 2iP, o qual ocorreu apenas na epiderme das sépalas.

Foi observado que a exigência da tamareira, quanto à concentração de citocinina no meio de cultura, para responder ao estímulo à embriogênese somática em segmentos de inflorescência, não deve ser menor do que a que já vem sendo usada no protocolo convencional (Taha et al., 2007), (Eke et al., 2005), (Badhaway et al., 2005), que é de 3mg/L, já que o intumescimento dos botões florais foi cada vez maior e o escurecimento gradativo das sépalas cada vez menor à medida que aumentou a concentração de 2iP no meio de cultura. As pétalas apenas intumesceram, mas não parecem participar do processo de regeneração, embora se encontrem ainda bem claras. No quinto mês, uma das culturas do tratamento 2,4mg/L de 2iP produziu calo embriogênico na epiderme da face interna da sépala, na base dela (Figura 2).



Figura 2. Pró embriões formados a partir de células basais da epiderme da face interna da sépala.

Todavia, como apenas uma cultura do tratamento com a concentração mais elevada de 2iP reagiu, significa que concentrações mais elevadas precisam ser testadas. Os pró-embriões formados estão sendo multiplicados conforme técnicas de Mater (1990) e Veramendi & Navarro (1996), para então serem submetidos ao meio de germinação.

Conclusões

1. A concentração de 2iP no meio de cultura, para estimular a embriogênese somática em segmentos nodais de inflorescência de tamareira, não deve ser menor do que 3mg/L.
2. Concentrações mais elevadas do que 2,4mg/L de 2iP precisam ser testadas.

3. O calo embriogênico induzido por 2iP nos segmentos nodais de inflorescência de tamareira se forma diretamente a partir de células da epiderme da sépala, situadas na base da sua face interna.

4. Calo não embriogênico, induzido por 2iP, se forma em toda a superfície das sépalas.

5. As pétalas não apresentam qualquer outro tipo de reação morfogênica, além do intumescimento.

Agradecimentos

À Embrapa Semiárido, à FACEPE e ao CNPq pelo suporte financeiro.

Referências

Abul-Soade, A. A., Mahdi, S. M. 2010. Commercial production of tissue culture date palm (*Phoenix dactylifera* L.) by inflorescence technique. *J. Genetic Eng. Biotechnol.* 8:39-44.

Badhaway, E. M., Habib, A. M. A., El-Bana, A., Yosry, G. M. 2005. Propagation of date palm (*Phoenix dactylifera*) plants by using tissue culture technique. *Arab J. Biotech.* 8:343-354.

Chao, C. T., Krueger, R. R. 2007. The Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.): Overview of Biology, Uses, and Cultivation. *Hortscience* 42: 1077-1082.

Costa, N. M. de S., Aloufa, M. A. I. 2010. Influência da luz na germinação in vitro de sementes de tamareira (*Phoenix dactylifera* L.). *Revista Ciências Agrônômica* 34:1630-1633.

Eke, C. R., Akomeah, P., Asemota, O. 2005. Somatic embryogenesis in date palm (*Poenix dactylifera* L.) from apical meristem tissues from 'zebia' and 'loko' landraces. *African J. Biotechnol.* 4:244-246.

Mater, A. A. 1990. Effect of auxin-cytokinin interaction on micropropagation of date palm. *Journal of King Saud University* 2(2): 211-223.

Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.

Veramendi, J., Navarro, L. 1996. Influence of physical conditions of nutrient medium and sucrose on somatic embryogenesis of date palm. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, the Netherlands 45:159-164.

Taha, H. S., S.A. Bekheet, S. A., El-Bahr, M. K. 2003. Alternative approach for micropropagation of the date palm c.v. Zaghlool. *Arabian Journal of Biotechnology* 6(1): 103-112.