



EFEITO DA SACAROSE E MEIO NUTRITIVO NA GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS DE BABAÇU (*Attalea speciosa* Mart ex Spreng)

EFFECT OF SUCROSE AND NUTRIENT MEDIUM ON THE *IN VITRO* GERMINATION OF BABASSU ZYGOTIC EMBRYOS (*Attalea speciosa* Mart ex Spreng)

Jéssica Cristina Barbosa Ferreira¹; Inaê Mariê de Araújo Silva-Cardoso²; Jonny Everson Scherwinski-Pereira³

¹ Departamento de Engenharia Florestal, Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, 70910-900, Brasília, DF, Brazil. jessicacbf.ifmg@gmail.com. Apresentadora do trabalho.

² Departamento de Engenharia Florestal, Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, 70910-900, Brasília, DF, Brazil. inaemarielfloresta@gmail.com.

³ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Av. W5 Norte (final), 70770-917, Brasília, DF, Brazil. jonny.pereira@embrapa.br. Apresentador do trabalho.

INTRODUÇÃO

O cultivo *in vitro* de embriões zigóticos tem sido frequentemente aplicado na propagação e conservação de várias palmeiras e tem proporcionado incremento nas taxas germinativas, bem como uniformização das plantas obtidas (BANDEIRA et al., 2013).

Em babaçu (*Attalea speciosa*), espécie de importância econômica sobretudo para os estados do Nordeste (SILVA et al., 2017), a germinação apresenta um conjunto de dificuldades, incluindo dormência física, dormência fisiológica e exigência de temperaturas específicas (NEVES et al., 2013) e, em função disso, sua germinação tem sido investigada *in vitro* (LEITE et al., 2014; SALEH, 2016). O crescimento e desenvolvimento de embriões *in vitro* depende, dentre outros fatores, da composição do meio de cultura, que deve ser o mais semelhante possível do endosperma ou do saco embrionário da espécie em questão, de modo a possibilitar um desenvolvimento satisfatório (ANDREOLI, 1986).

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de sacarose e meios de cultivo na germinação *in vitro* de babaçu (*Attalea speciosa* Mart ex Spreng).

MATERIAL E MÉTODOS

Frutos maduros de babaçu foram coletados de matrizes adultas em populações naturais de São Luís e Codó, MA, para extração dos embriões zigóticos. Após extração dos frutos, as sementes foram mantidas em caixas de papelão, à temperatura ambiente, por 9 semanas, antes do início do experimento.

A desinfestação das sementes foi realizada em câmara de fluxo laminar, por imersão em álcool etílico 70% (v/v), durante cinco minutos, seguida de imersão em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) (2,5% de cloro ativo) por 40 min. Três sucessivas lavagens foram realizadas em água destilada e autoclavada, por um minuto cada. Logo depois, em condições assépticas, as sementes foram seccionadas e



os embriões isolados.

Em seguida, os embriões zigóticos (Figura 1A) foram inoculados nos seguintes meios de cultivo: MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e Y3 (EEUWENS, 1976). A fonte de Fe-EDTA e vitaminas do meio Y3 foi mantida de acordo com a concentração original do meio de cultura de MS. Ambos meios foram suplementados com 0,5 g/L de glutamina, caseína e cisteína, 2,5 g/L de carvão ativado e sacarose em diferentes concentrações (g/L): 15, 30, 45 e 60.

Os meios usados foram gelificados com 2,5 g/L de Phytigel (Sigma) e o pH ajustado para $5,8 \pm 0,1$ antes da adição do agente gelificante. Os meios foram autoclavados por 20 minutos à $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 1,5 atm de pressão. O experimento foi realizado em tubos de ensaio (25 x 150 mm) mantidos em sala de crescimento com condições controladas de temperatura ($25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), sob disponibilidade de luz. Avaliou-se, após 45 dias, as seguintes variáveis (%): emissão de parte aérea, emissão de raiz e emissão de parte aérea e raiz (germinação completa).

Adotou-se delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (2x4): meio basal (Y3 e MS) e concentração de sacarose (15, 30, 45 e 60 g/L). Cada tratamento foi composto por quatro repetições com 25 embriões zigóticos cada. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$), por meio do software estatístico R.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos 15 dias, verificaram-se alongamento do pecíolo cotiledonar da maioria dos embriões (Figura 1B) e coloração esverdeada na região distal de alguns embriões inoculados (Figura 1C). Aos 30 dias, a emissão de parte aérea ou sistema radicular foi observada. Com 40 dias, determinaram-se os percentuais de emissão de parte aérea, emissão de raiz e emissão de parte aérea e raiz (germinação completa) (Figura 1D).

Identificou-se interação significativa entre os fatores testados para a variável emissão de parte aérea, a qual foi desdobrada (Figura 2). Segundo análise, a concentração 15 g/L proporcionou maior percentual de emissão de parte aérea em embriões zigóticos inoculados em meio Y3 que em meio de MS. Por outro lado, o tratamento 45 g/L de sacarose proporcionou resultado oposto. De forma geral, a taxa de emissão de parte aérea foi relativamente baixa, não ultrapassando 14% (Figura 2). Salienta-se nesse contexto, a importância da otimização da quantidade de sacarose acrescida ao meio de cultivo, inclusive, em função do meio nutritivo utilizado. Ressalta-se ainda, o papel da sacarose no suprimento das necessidades metabólicas do explante, participando no fornecimento de energia ou como fonte de carboidrato para os processos de diferenciação celular (LEIFERT; MURPHY; LUMSDEN, 1995).

Quanto à emissão de sistema radicular, não foram verificadas diferenças entre os meios de germinação (Figura 3A). Contudo, diferenças foram observadas entre as concentrações de sacarose, com destaque para o tratamento 45 g/L que propiciou 31,5% de emissão de raiz, independente do meio basal (Figura 3B). Resultado semelhante foi mencionado por Mikovski et al. (2015) em *Eutерpe oleracea*. Conforme Leite et al. (2014), também trabalhando com babaçu, maiores concentrações de



sacarose na presença de carvão produzem resultados melhores. Com relação a germinação completa (emissão de ambos meristemas), os percentuais foram significativamente baixos (valor médio de 1,9%), sem diferenças observadas entre os tratamentos avaliados (Figura 3B). A baixa taxa de germinação obtida, possivelmente esteja relacionada à variabilidade genética inerente às matrizes, ou ainda, à precocidade da avaliação.

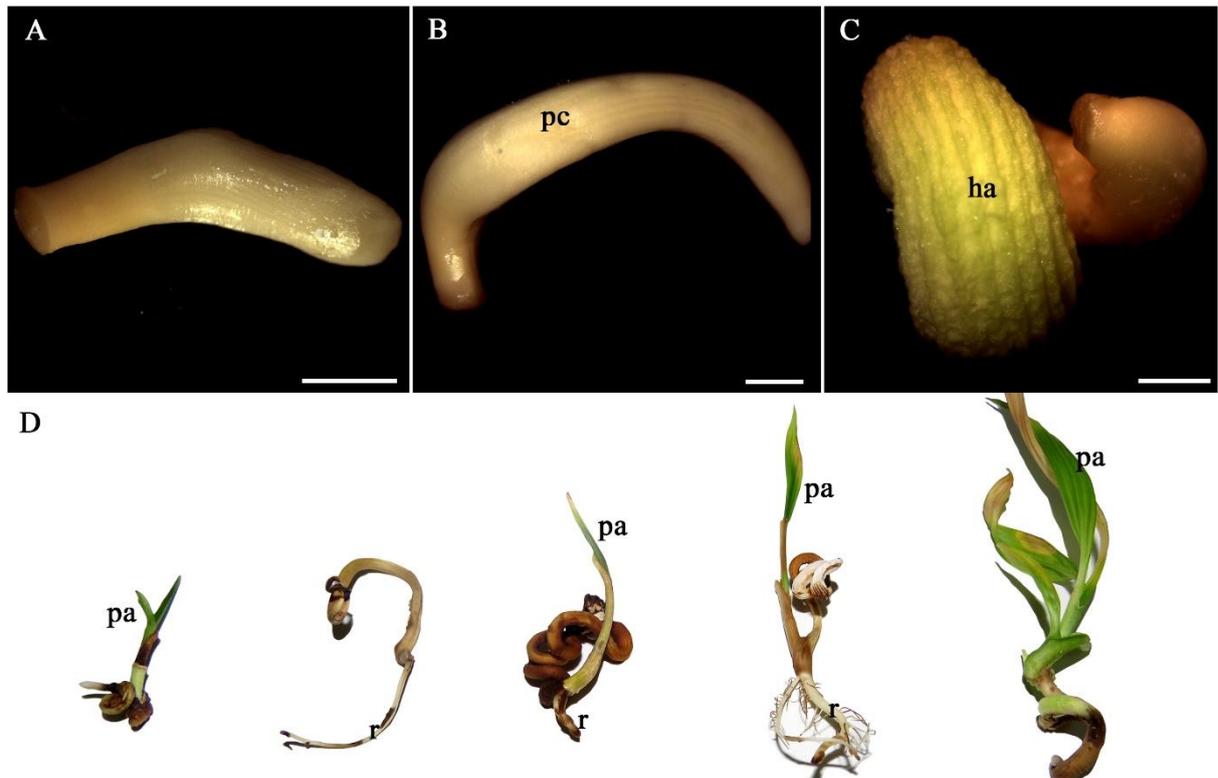


FIGURA 1 - Germinação de embriões zigóticos de babaçu (*Attalea speciosa*) inoculados *in vitro*. A: Embrião zigótico imediatamente após a inoculação. B: Embrião zigótico com alongamento do pecíolo cotiledonar. C: Embrião zigótico com região distal (haustório) intumescida; notar esverdeamento. D: Emissão de parte aérea e/ou sistema radicular. Abreviações: (ha) haustório, (pa) parte aérea, (pc) pecíolo cotiledonar e (r) raiz. Escalas = A, B, C: 2 mm.

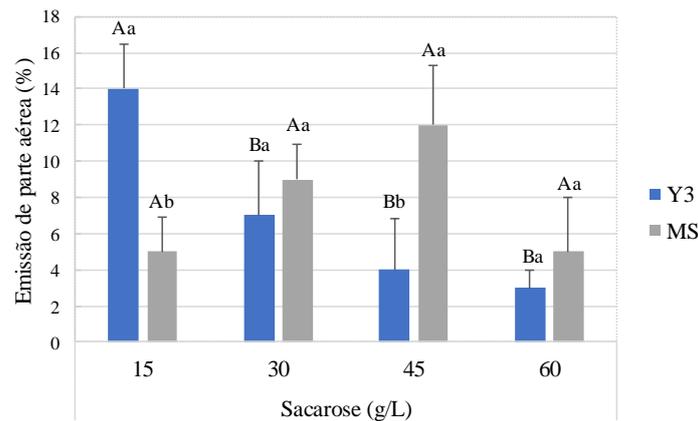


FIGURA 2 - Emissão de parte aérea de embriões zigóticos de babaçu (*Attalea speciosa*) cultivados *in vitro* em dois meios basais acrescidos de quatro diferentes concentrações de sacarose. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os meios basais em cada concentração de sacarose e letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações, dentro de cada meio basal, pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

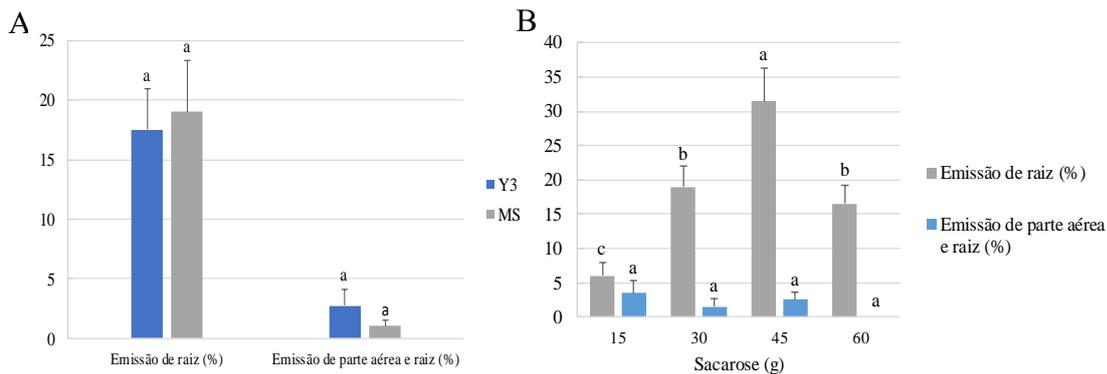


FIGURA 3 - Emissão de raiz (%) e de parte aérea e raiz (%) de embriões zigóticos de babaçu (*Attalea speciosa*) cultivados *in vitro* em dois meios basais (A) e em quatro diferentes concentrações de sacarose (B). Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

CONCLUSÃO

A emissão de parte aérea de embriões zigóticos de babaçu (*Attalea speciosa*), nas condições estudadas, depende do meio cultivo e concentração de sacarose, com melhores resultados em meio Y3 e 15 g/L de sacarose. A emissão do sistema radicular de babaçu foi otimizada pela concentração 45 g/L de sacarose, porém, a taxa de germinação completa foi significativamente baixa. Sugere-se testar, em estudos futuros, reguladores de crescimento.



REFERÊNCIAS

- ANDREOLI, C. Cultura de embriões. In: Simpósio De Cultura De Tecidos Vegetais, 1., 1985, Brasília, DF. **Anais...** Brasília, DF: ABCTP/EMBRAPA, 1986. p. 25-28.
- BANDEIRA, F.S.; XAVIER, A.; LANI, E.R.G.; OTONI, W.C. Germinação *in vitro* de embriões zigóticos maduros de macaúba influenciada por temperaturas de armazenamento dos frutos e concentrações de sacarose. **Revista Árvore**, Viçosa, v.37, n.4, p.691-700, 2013. <http://www.scielo.br/pdf/rarv/v37n4/12.pdf>. 16 abril 2018.
- EEUWENS, C. J. Mineral requirements for growth and callus initiation of tissue explants Excised from mature coconut palms (*Cocos nucifera*) and cultured in vitro. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 36, p. 23-28, 1976. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1976.tb05022.x>.
- LEIFERT, C.; MURPHY, K.P.; LUMSDEN, P.J. Mineral and carbohydrate nutrition of plant cell and tissue cultures. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Philadelphia, v.14, n.2, p.83-109, 1995. <https://doi.org/10.1080/07352689509701923>.
- LEITE, M.S.; FARIA, A.P.S.; PEREIRA, F.D.; SILVA, F.G.S. In Vitro Cultivation of Babassu Embryos with Different Concentrations of Sucrose and Activated Carbon. **International Journal of Agricultural Technology**, Ladkrabang Bangkok, v. 10, n. 3, p.705-716, 2014. <http://www.ijat-aatsea.com>.
- MIKOVSKI, A.I.; CARVALHO, I.F.; SANDER, N.; SILVA C.J.; SILVA, M.L. Efeito de sacarose e carvão ativado na germinação e no desenvolvimento *in vitro* de embriões zigóticos de açáí (*Euterpe oleracea*). **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.11 n.21, p. 869-977, 2015.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 15, p. 473-497, 1962. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.
- NEVES, S.C.; RIBEIRO, L.M.; CUNHA, I.R.G.; PIMENTA, M.A.S.; MERCADANTE-SIMÕES, M.O.; LOPES, P.S.N. Diaspore structure and germination ecophysiology of the babassu palm (*Attalea vitrivir*). **Flora**, Amsterdam, v. 208, n. 1, p. 68-78, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2012.12.007>.
- SALEH, E.O.L. **Fisiologia da germinação in vitro, embriogênese somática e conservação ex situ de babaçu (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng)**. 2016. 133 p. Tese (Doutorado em Botânica) - Instituto de Ciências Biológicas - IB, Universidade de Brasília, UnB, Brasília, 2016.
- SILVA, M.E.C; BASTOS, E.M.; NETO, J.R.A.; SANTOS, K.P.P.; VIEIRA, F.J.; BARROS, R.F.M. Aspectos etnobotânicos da palmeira babaçu (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng.) em comunidades extrativistas no Piauí, nordeste do Brasil. **Gaia Scientia**, João Pessoa, v.11, n.3, 196-211, 2017. <https://doi.org/10.21707/gs.v11.n03a15>.