

OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL



**Anais da XVI Jornada
de Iniciação Científica da
Embrapa Amazônia Ocidental**

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Ocidental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Anais da XVI Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

*Cláudia Majolo
Inocencio Junior de Oliveira
Jony Koji Dairiki
Maria Geralda de Souza
Ronaldo Ribeiro de Moraes
Editores Técnicos*

Embrapa
Brasília, DF
2020

Embrapa Amazônia Ocidental
Rodovia AM-010, Km 29,
Estrada Manaus/Itacoatiara,
Manaus, AM
69010-970
Caixa Postal 319
Fone: (92) 3303-7800
Fax: (92) 3303-7820
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

**Unidade responsável pelo
conteúdo e edição**
Embrapa Amazônia Ocidental

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente
Everton Rabelo Cordeiro

Secretária-executiva
Gleise Maria Teles de Oliveira

Membros
José Olenilson Costa Pinheiro, Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa e Maria Perpétua Beleza Pereira

Revisão de texto
Maria Perpétua Beleza Pereira

Normalização bibliográfica
Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa

Projeto gráfico e editoração eletrônica
Gleise Maria Teles de Oliveira

1ª edição
Publicação digital (2020)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Amazônia Ocidental

Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental (16 : 2019 : Manaus).
Anais da XVI Jornada Científica da Embrapa Amazônia Ocidental / Claudia Majolo ... [et al.], editores técnicos. – Brasília, DF : Embrapa, 2020.
PDF (130 p.) : il. color.

ISBN 978-65-86056-10-5

1. Iniciação científica. 2. Comunicação científica. 3. Pesquisa. I. Majolo, Cláudia. II. Título. III. Embrapa Amazônia Ocidental.

CDD 501

Viabilidade e germinação in vitro de embriões zigóticos de caiaué

Eduardo José Dias da Silva¹

Daniele Simões Araújo¹

Cibelle Azamora dos Santos²

Ricardo Lopes³

Pamela Keiko Harada⁴

Alex Queiroz Cysne⁵

Resumo – A germinação in vitro de embriões zigóticos de caiaué pode reduzir o tempo e o custo quando comparada à germinação convencional, pois não requer a quebra de dormência. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de genótipo e meio de cultura na germinação in vitro de embriões de caiaué. Avaliou-se a germinação in vitro de quatro genótipos de caiaué (Maués, Manicoré, Amarati e Careiro) e três meios de cultura (MS, OPCM e Y3), com e sem fósforo. Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado, esquema fatorial triplo, com quatro repetições. Antes, na inoculação in vitro, avaliaram-se a viabilidade e o vigor dos embriões pelo teste do tetrazólio (TZ). O efeito de genótipos foi significativo, já o meio de cultura e a presença de fósforo não influenciaram na germinação dos embriões. A viabilidade e o vigor dos embriões avaliados pelo teste de TZ apresentaram alta correlação com a germinação dos embriões.

Termos de indexação: *Elaeis oleífera*, propagação in vitro, cultura de tecidos de plantas.

¹Bolsista de Iniciação Científica, Pibic/CNPq/Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

²Bolsista de Iniciação Científica, Pibic/Fapeam/Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

³Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

⁴Engenheira de alimentos, mestra em Processos Biotecnológicos, analista da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

⁵Engenheiro-agrônomo, mestre em Agronomia (Fitotecnia), analista da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

Viability and in vitro germination of caiaué zygotic embryos

Abstract – In vitro germination of caiaué zygotic embryos can reduce time and cost when compared to conventional germination because it does not require the break dormancy. The aim of this study was to evaluate the genotype and culture medium effect on in vitro germination of caiaué zygotic embryos. In vitro germination of four genotypes (Maués, Manicoré, Amarati and Careiro) and three culture medium (MS, OPCM and Y3), with and without phosphor, were evaluated. An experiment in completely randomized design, in a triple factorial scheme, with four replications was use. Before in vitro inoculation, the viability and vigor of the embryos were evaluate by the tetrazolium test (TZ). The genotypes effect was significant whilst culture medium and phosphor presence does not influenced the embryos germination. The embryos viability and vigor analysed by TZ test showed high correlation with embryos germination.

Index terms: *Elaeis oleifera*, in vitro propagation, plant tissue culture.

Introdução

O caiaué (*Elaeis oleifera*), espécie de origem americana, é citado como a única fonte de resistência genética ao amarelecimento-fatal (AF), anomalia que ameaça à dendeicultura latino-americana dado o alto grau de letalidade à palma de óleo africana (*E. guineensis*), sendo esta a principal fonte mundial de óleo vegetal (USDA, 2019). Além disso, o caiaué se destaca pelo menor crescimento em altura, qualidade do óleo e menor atratividade às pragas, como desfolhadoras e brocas. Considerando suas características de interesse para o melhoramento da palma de óleo africana e a possibilidade de geração de hibridação com essa espécie, o caiaué tem sido explorado nos principais programas de melhoramento genético da espécie africana.

Em condições naturais, as sementes do gênero *Elaeis*, ao qual pertence o caiaué, apresentam baixas taxas de germinação e podem demorar anos, principalmente devido à dormência manifestada após a maturação fisiológica. A dormência no caiaué ocorre em razão da resistência mecânica do endocarpo, que possui consistência dura e densa. Também é influenciada pela absorção de oxigênio, que limita o alongamento do embrião. A quebra de dormência das sementes da espécie tem sido realizada pelo método do calor seco (Lima et al., 2017). Embora apresente bons resultados, esse método requer procedimentos que demandam em torno de 4 a 5 meses para obtenção de sementes germinadas. A germinação in vitro de embriões zigóticos de caiaué pode ser uma estratégia viável para acelerar e reduzir o custo da germinação de suas sementes, uma vez que são eliminados por essa técnica os fatores que determinam a dormência.

Apesar de as bases fisiológicas da propagação vegetativa via cultura de tecidos de plantas serem as mesmas para a maioria das espécies, e sendo bastante exploradas e promissoras para a palma de óleo africana (Scherwinski-Pereira et al., 2010), ainda não existem protocolos para germinação de embriões de caiaué.

Protocolos eficientes e reproduzíveis para germinação in vitro de embriões de caiaué podem, além de ser aplicados na produção comercial de mudas, ser utilizados para multiplicação de genótipos de interesse para a conservação e o melhoramento genético da espécie, bem como para a obtenção de plântulas em condições assépticas para estudos in vitro.

Antes da germinação das sementes de caiaué pelo método convencional ou germinação in vitro dos embriões é importante conhecer a viabilidade e o vigor das sementes/embriões utilizando métodos de rápida resposta e baixo custo, por exemplo, o teste de TZ. Esse teste tem como objetivo determinar a viabilidade e o vigor de sementes e pode ser aplicado individualmente ou em lotes. É

utilizado, principalmente, em sementes que apresentam dormência, recalcitrância e as que germinam lentamente em testes de rotina (Brasil, 2009). Existe recomendação do teste de TZ para análise de viabilidade e vigor de sementes de palma de óleo (Green et al., 2016), mas é necessário validar o protocolo para o caiaué, espécie para a qual ainda não foi utilizado.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do genótipo e do meio de cultura na germinação *in vitro* de embriões zigóticos de caiaué e verificar o potencial de uso do teste do tetrazólio na análise de viabilidade e vigor dos embriões de caiaué.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, Amazonas. Os embriões zigóticos foram excisados de sementes coletadas de plantas de caiaué do Banco de Germoplasma de *Elaeis* da Embrapa Amazônia Ocidental, localizado no Campo Experimental do Rio Urubu, Rio Preto da Eva, AM. Foram coletadas sementes de quatro diferentes genótipos distinguidos pelas origens: Manicoré, Maués, Amatari e Careiro.

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial triplo com quatro genótipos (Amatari, Careiro, Manicoré e Maués) x três meios de cultura (MS, OPCM e Y3) x duas doses de fósforo (0 e 170 mg L⁻¹), com quatro repetições, sendo a unidade experimental representada por dez embriões.

Para a extração dos embriões, primeiro foi realizada a quebra manual do endocarpo das sementes, permanecendo a amêndoa com o embrião, que foi extraído com auxílio de lâmina de bisturi e pinça. Imediatamente após a extração dos embriões foi realizado o teste de TZ, seguindo as recomendações de Green et al. (2016), utilizando quatro amostras de 25 embriões de cada genótipo, e obtido o percentual de viabilidade e vigor dos embriões de cada genótipo.

No estabelecimento do experimento de germinação *in vitro* inicialmente foi realizada a desinfestação da amêndoa + embrião por imersão em hipoclorito de sódio 50% por 10 minutos, seguida por enxágue em água corrente. Após a desinfestação, os embriões foram extraídos da amêndoa e imersos em solução de hipoclorito de sódio (5% de cloro ativo) por 5 minutos e lavados três vezes em água destilada autoclavada e em seguida inoculados nos meios de cultura de acordo com os tratamentos estabelecidos. Utilizaram-se os meios de cultura MS (Murashige; Skoog, 1962), OPCM (Heedchim, 2014) e Y3 (Eeuwens, 1976), com 0 e 170 mg L⁻¹ de NaH₂PO₄, acrescidos de sacarose (3%), carvão ativado (0,25%) e ágar (0,7%). O pH do meio foi ajustado a 5,8 antes da adição do ágar. Após preparo, os meios foram esterilizados em autoclave a 121 °C à pressão de 1,2 atm por 15 minutos.

A inoculação dos embriões *in vitro* foi realizada em placas de Petri com 1 cm de altura, 9 cm de diâmetro e 30 mL de meio de cultura, onde permaneceram por 30 dias. Após esse período os embriões germinados foram transferidos para frascos de vidro com 10 cm de altura, 5 cm de diâmetro e 40 mL do meio de cultura onde permaneceram por mais 60 dias para desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular. A cultura *in vitro* foi conduzida em sala de crescimento com temperatura de 25 °C ± 2 °C, mantendo os explantes no escuro nos 7 primeiros dias após a inoculação *in vitro* e por mais 83 dias com intensidade luminosa de 30-40 μmol m⁻² s⁻¹ obtida com lâmpadas LED e fotoperíodo de 16 horas. Aos 30, 60 e 90 dias após a inoculação *in vitro* dos embriões foi avaliado o percentual de plântulas completas formadas, ou seja, com desenvolvimento normal da parte aérea e radicular.

Os dados foram submetidos à análise de variância (Anova) e as médias, comparadas pelo teste de Tukey (P<0,05%). Antes de realizar a Anova verificou-se a normalidade da distribuição dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk (P<0,05%).

Resultados

O efeito de genótipo foi significativo, enquanto o meio de cultura e fósforo não influenciaram significativamente na germinação in vitro dos embriões (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância do efeito de genótipos, meios de cultura e fósforo na germinação in vitro de embriões zigóticos de caiaué.

Fonte de variação	GL	QM	F	Probabilidade
Genótipo	3	31,45	13,42	0,0000*
Meio de cultura	2	3,82	1,63	0,2041ns
Fósforo	1	0,11	0,04	0,8327ns
Resíduos	64	2,34		
Total	87		CV = 32,58%	

* e ns, respectivamente, significativo e não significativo pelo teste F ($p < 0,05$).

Os genótipos das origens Maués e Manicoré apresentaram taxas de germinação de 79,2% e 77,3% respectivamente, as quais não diferiram estatisticamente entre si e foram superiores às taxas de germinação dos genótipos Amaratari (61,4%) e Careiro (54,8%), que não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 2).

Tabela 2. Médias do percentual de plântulas completas obtidas a partir da germinação in vitro de embriões zigóticos de caiaué após 90 dias da inoculação.

Genótipos	Germinação in vitro (%)
Maués	79,2 a
Manicoré	77,3 a
Amaratari	61,4 b
Careiro	54,8 b

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si (Tukey, $P > 0,05\%$)

Alta (99,7%) e significativa correlação entre a taxa de germinação in vitro e a viabilidade e o vigor dos embriões zigóticos de caiaué foi verificada (Figura 1).

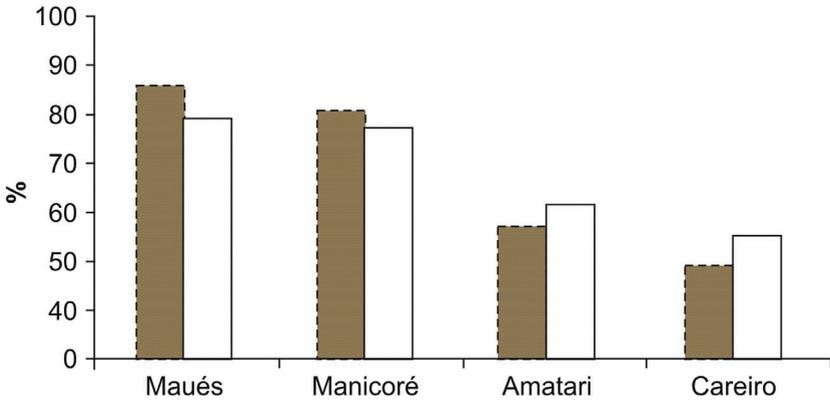


Figura 1. Viabilidade avaliada pelo teste do tetrazólio (barra cinza) e germinação in vitro (barra sem cor) de embriões zigóticos extraídos de sementes de diferentes origens de caiaué.

Fonte: Dados obtidos pelos autores.

Discussão

O efeito significativo de genótipos com diferença entre as taxas de germinação in vitro indica que existe variação para a taxa de germinação dos genótipos de caiaué in vitro. Já o fato de não serem significativos os efeitos do meio de cultura e da adição de fósforo indica que qualquer um dos três meios testados (MS, OPCM e Y3) pode ser utilizado para germinação dos embriões, sem a adição de fósforo. Taxas similares de germinação devem ser obtidas independentemente dos genótipos, visto que não houve interação entre genótipo e meio de cultura ou fósforo.

A alta correlação (99,7%) entre os resultados de viabilidade e vigor dos embriões pelo teste de TZ e da germinação in vitro dos embriões indica que o teste é eficiente para avaliar o potencial de germinação de lotes de semente de forma rápida, visto que demanda menos de 24 horas para obtenção dos resultados, pode-se evitar gasto com tempo e recursos utilizando lotes com baixo potencial de germinação.

Conclusões

Existe diferença entre os genótipos de caiaué para taxa de germinação de embriões zigóticos in vitro. Tanto o meio de cultura (MS, OPCM e Y3) quanto a presença de fósforo não influenciam a taxa de germinação in vitro de embriões zigóticos de caiaué. Já o teste de TZ, recomendado para embriões zigóticos de dendê, pode ser utilizado na análise da viabilidade e vigor de embriões zigóticos de caiaué.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de iniciação científica do Programa Pibic, à assistente do Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Amazônia Ocidental Rosimar Fernandes de Souza, pelo apoio nas atividades de laboratório; e aos empregados do Laboratório de Dendê e Agroenergia da Embrapa Amazônia Ocidental, pelo apoio na obtenção e extração de embriões das sementes.

Referências

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF, 2009. 395 p. Disponível em: <http://www.abrates.org.br/>. Acesso em: 24 ago. 2020.

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**, v. 36, n. 11, p. 23-28, 1976.

GREEN, M.; LIMA, W. A. A. de; FIGUEIREDO, A. F. de; QUISEN, R. C.; LOPES, R. Teste de tetrazólio em embriões de sementes de dendezeiro. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 59, n. 2, p. 203-207, abr./jun. 2016. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/155104/1/Wanderlei-teste-de-tetrazolio.pdf>. Acesso em: 24 ago. 2020.

HEEDCHIM, V. **Molecular markers and flow cytometry for identification of abnormal oil plantlet in vitro (in Thain)**. 2014. 119 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Prince of Sonkla, Tailândia.

LIMA, W. A. A. de; GREEN, M.; ZEVIANI, W. M.; LOPES, R.; RIOS, S. de A. Teor de água e tempo de exposição ao tratamento térmico na germinação de sementes de caiaué. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 60, n. 2, p. 192-198, abr./jun. 2017. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/171462/1/Wanderlei-Germinacao-de-sementes-de-caiue.pdf>. Acesso em: 24 ago. 2020.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; GUEDES, R. S.; FERMINO, P. C. P.; SILVA, T. L.; COSTA, H. S. Somatic embryogenesis and plant regeneration in oil palm using the thin cell layer technique. **In vitro Cellular & Developmental Biology Plant**, v. 46, p. 378-385, 2010.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. **Oil seeds: World Markets and Trade**. Circular Series, March 2019. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov/psdonline/circulars/oilseeds.pdf>. Acesso em: 30 jul. 2019.