

Uso de 5-azacitidina para reaquisição de competência embriogênica em *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* var. *hondurensis*

Evelyn Lopes dos Santos

Biotecnóloga, mestranda em Agronomia na Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR

João Carlos Bernaldo Filho

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agricultura, Professor na Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR

João Arthur Tickler de Sousa

Engenheiro Florestal, mestrando em Engenharia Florestal na Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR

Juliana Degenhardt-Goldbach

Engenheira-agrônoma, Doutora em Ciências da Horticultura, pesquisadora da Embrapa Florestas, Colombo, PR, juliana.degenhardt@embrapa.br

A embriogênese somática, sendo uma técnica de clonagem altamente eficiente, permite a produção rápida de mudas de alto valor. No entanto, observa-se a perda da competência embriogênica em massas pró-embriogênicas (MPEs) subcultivadas por mais de dez meses, e conseqüentemente as massas morrem. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do agente hipometilante 5-azacitidina (5-azaC) na reaquisição da competência embriogênica do híbrido de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* x *P. elliottii*. Após 17 meses sob subcultivo, MPEs de duas linhagens (ECL02 e ECL05) foram expostas por dez dias ao 5-azaC adicionado no meio de cultura a 50 µM e 150 µM, bem como um controle sem o agente. No terceiro e décimo dia de experimento, amostras foram coletadas e submetidas à análise de expressão gênica, via RT-qPCR, para genes relacionados às fases iniciais da embriogênese: *Somatic Embryogenesis Receptor Kinase 1 (SERK1)* e *Leafy Cotyleton 1 (LEC1)*. Os dados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) empregando o software RStudio®. Após dez dias de exposição, os níveis de expressão de *SERK1* e *LEC1* duplicaram em relação ao controle para ECL05, sugerindo a reaquisição da competência embriogênica após exposição ao agente 5-azaC na concentração de 150 µM. Em contrapartida, a linhagem ECL02 na análise por RT-qPCR revelou a diminuição nos níveis de expressão em ambos os tratamentos e para ambos os genes, sugerindo que não houve influência positiva do agente sobre a reaquisição nessa linhagem. Os resultados demonstram a possibilidade do uso do agente 5-azaC na reaquisição da competência embriogênica, contudo, sugerem uma dependência do genótipo. A reaquisição da competência embriogênica poderia eliminar um gargalo da embriogênese somática, sendo essa uma das técnicas mais importantes para o futuro da clonagem de espécies florestais.

Palavras-chave: Epigenética; Metilação do DNA; Potencial embriogênico.

Apoio/financiamento: Embrapa Florestas; Funpinus.