

## 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](mailto: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.