



EMBRIOGENESE SOMÁTICA EM AÇAIZEIRO (*Euterpe oleracea* MART.) A PARTIR DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS MATUROS E IMATUROS

ELINEA OLIVEIRA FREITAS¹; TATIANE ROSA MONTEIRO²; JONNY EVERSON SCHERWINSKI-PEREIRA³;
1,2.UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UNB, BRASÍLIA, DF, BRASIL; 3.EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E
BIOTECNOLOGIA, BRASÍLIA, DF, BRASIL;
elineaofreitas@yahoo.com.br

Resumo: O trabalho objetivou induzir a embriogênese somática em açaizeiro a partir de embriões zigóticos em diferentes estágios de maturação. O meio de cultura utilizado foi o de MS adicionado de 30 g.L⁻¹ de sacarose, 2.5 g.L⁻¹ de Phytigel, 0,5 g.L⁻¹ de L-glutamina e 2.5 g.L⁻¹ de carvão ativado, além das auxinas Picloram e 2,4-D na concentração de 450 µM. Após 30 semanas de indução, a percentagem de calos embriogênicos e não embriogênicos, além da formação de embriões somáticos foram avaliados. Verificou-se que os estágios de maturação dos embriões zigóticos testados não influenciaram significativamente nenhuma das variáveis analisadas. Entre as auxinas testadas, observou-se que 2,4-D e Picloram não diferem para a indução de calos embriogênicos a partir de embriões zigóticos de frutos maduros ou imaturos, mas o 2,4-D promove a maior formação de calos com embriões somáticos do que a auxina Picloram.

Palavras chaves: *Euterpe oleracea*, Cultura de tecidos de plantas, Embriogênese somática.

Introdução

O açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) é uma espécie florestal típica da região do estuário Amazônico de importância socioeconômica no mercado nacional e internacional devido ao seu potencial de aproveitamento, em especial, a produção de frutos para o mercado de polpa congelada. Nesse contexto, programas de melhoramento genético da cultura vêm sendo desenvolvidos visando a geração de cultivares cada vez mais produtivas e adaptadas (OLIVEIRA & FARIAS NETO, 2006). No entanto, as sementes dessa espécie são consideradas recalcitrantes e os métodos de propagação vegetativa são difíceis e ineficientes. Esse fato dificulta a clonagem e produção de mudas de indivíduos com algum interesse agrônomo, além de dificultar que ganhos genéticos possam ser fixados em programas de melhoramento genético. Desse modo, a propagação *in vitro* pode constituir-se como uma importante ferramenta para a multiplicação clonal da espécie (SCHERWINSKI-PEREIRA *et al.*, 2012).

A embriogênese somática é uma técnica da cultura de tecidos de plantas que envolve a regeneração de plantas por meio da obtenção de embriões a partir de tecido somático. De modo geral, a principal aplicação comercial da embriogênese somática em espécies florestais tem sido a multiplicação massal de genótipos superiores (SUTTON, 2002).



O objetivo deste trabalho foi avaliar o estágio fisiológico e tipos de auxinas na indução da embriogênese somática em *Euterpe oleracea* Mart..

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF.

Como fonte de explantes foram utilizados embriões zigóticos (EZ) extraídos de frutos maduros e imaturos de *Euterpe oleracea*, obtidos do Campo Experimental da Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

Em condições de laboratório os frutos de *E. oleracea* foram submetidos a um processo de desinfestação, sendo os frutos levados para a câmara de fluxo laminar e imersos em álcool 70% por 5 min, seguida de imersão em hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo) por 15 min. Os frutos foram então enxaguados por três vezes em água destilada e autoclavada.

Após a desinfestação, os frutos foram abertos com o auxílio de bisturi e pinça. Após a retirada do embrião zigótico, os mesmos foram imersos em álcool 70% por 1 min e em hipoclorito de sódio (1% de cloro ativo) por 10 min e, em seguida, foram lavados por três vezes consecutivas em água destilada e autoclavada e secos em placa de petri contendo discos estéreis de papel filtro.

O meio de cultura utilizado foi composto pelos sais e vitaminas do meio de MS, acrescido de 30 g.L⁻¹ de sacarose, 2,5 g.L⁻¹ de Phytigel, 0,5 g.L⁻¹ de L-glutamina e 2,5 g.L⁻¹ de carvão ativado.

Para a indução de embriogênese somática foram utilizadas as auxinas 2-4-D e Picloram na concentração de 450 µM, além de serem testados dois tipos de frutos, denominados FI (fruto imaturo) e FM (fruto maduro), totalizando quatro tratamentos. Os embriões zigóticos foram cultivados em placas de petri de dimensões de 90 x 15 mm, contendo 20 mL de meio de MS. O pH dos meios foi ajustado para 5,8±0,1 antes da esterilização em autoclave à 121°C e 1,5 atm por 20 min. Os explantes foram incubados em sala de cultivo com temperatura a 25°C ± 2°C, na ausência de luz por aproximadamente 30 semanas.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado formando um fatorial 2x2, com duas auxinas (Picloram e 2,4D) e dois estágios de maturação do fruto (maduro e imaturo). Cada tratamento foi composto por 16 repetições (placas) contendo pelo menos seis explantes (embriões zigóticos) por repetição.

Nesta etapa do experimento, avaliou-se a percentagem de calos não embriogênicos e calos embriogênicos, além da formação de embriões somáticos. Os dados avaliados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha \leq 0,05$), utilizando-se o programa SISVAR (FERREIRA, 2003).

Resultados e Discussões

No processo de indução da embriogênese somática observou-se, após três semanas de cultivo, o intumescimento dos embriões e o início da formação de calos primários na região proximal dos embriões zigóticos, em ambos os estágios de maturação. A indução de embriões somáticos seguiu a rota indireta. No entanto, Guerra (1989), ao induzir embriões zigóticos imaturos e maduros em *E. edulis* verificou que a formação dos embriões somáticos ocorreu diretamente sobre os tecidos do nó cotiledonar, ou seja, não ocorreu a formação prévia de calos, divergindo dos resultados obtidos nesse trabalho.

Aos 45 dias de indução, observou-se o crescimento dos calos. Os calos formados foram classificados em dois tipos de acordo com o aspecto e coloração: o primeiro, classificado como embriogênico, apresentava aspecto granular e coloração amarela clara; o segundo, não embriogênico, apresentava aspecto esponjoso e coloração branca, sendo que nesse tipo de calo não se observou nenhuma formação de embriões somáticos.

As auxinas não diferiram estatisticamente para a formação de calos não embriogênicos e embriogênicos. Diferenças só foram observadas entre as auxinas em relação a percentagem de formação de calos com embriões somáticos, sendo a auxina 2,4-D (58,8%) a que proporcionou resultados significativamente superiores quando comparada à auxina Picloram (25,5%) (Tabela 1).

Ao final das 30 semanas de indução não foram observadas respostas diferenciadas dos explantes utilizados (EZ maturo e imaturo) em relação à formação de calos embriogênicos (Tabela 1).

Tabela 1 - Efeito das auxinas Picloram e 2,4-D (450 μ M) e das características dos embriões zigóticos usados como explante (maturo e imaturo) sobre a formação de calos não embriogênicos, embriogênicos e formação de embriões somáticos durante a indução da embriogênese somática em açaizeiro (*Euterpe oleraceae*), após 30 semanas de cultivo.

Tratamento	Calo não embriogênico			Calo embriogênico			Calos com embrião somático		
	(%)			(%)			(%)		
	EZ imaturo	EZ maduro	Média	EZ imaturo	EZ maduro	Média	EZ imaturo	EZ maduro	Média
2,4 D	18,5aA	22,3aA	20a	74,5aA	61,6aA	68,8a	68,0aA	47,2aA	58,8a
Picloram	44,4aA	24,0aA	31a	42,2aA	53,5aA	49,5a	21,6bA	27,2aA	25,5b
Média	27,1A	23,2A		57,3A	63,7A		52,5A	36,9A	



Médias seguidas por letras distintas minúsculas na vertical, dentro de cada característica do embrião zigótico, e maiúsculas na horizontal, dentro de cada auxina testada diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Conclusões

- EZ maduros e imaturos não apresentam diferenças quanto a indução da embriogênese somática e podem ser considerados como fonte de explante para a formação de calos embriogênicos em *E. oleracea*.
- As auxina 2,4-D e Picloram não diferem para a indução de calos embriogênicos em açazeiro a partir de embriões zigóticos de frutos maduros ou imaturos, mas o 2,4-D promove a maior formação de calos com embriões somáticos do que a auxina Picloram.

Referencias Bibliográficas

FERREIRA, D.F. Sisvar versão 4.2. DEX/UFLA, 2003.

GUERRA M. P, **Embriogênese somática em *E. edullis* Mart. (Palmae)**. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Santa Catarina (SP), 110p, 1989.

LEDO, A. da S.; LAMEIRA, O. A.; BENBADIS, A. K.; MENEZES, I. C. de; OLIVEIRA, M. do S. P.e FILHO, S. M. Embriogênese somática em embriões zigóticos de *E. oleracea* Mart. **Revista Brasileira Fruticultura** Jaboticabal - SP, p 468-472, 2001.

OLIVEIRA, M. do S.P. de; FARIAS NETO, J.T. de. **Cultivo do açazeiro para produção de frutos**. In: NOGUEIRA, O.L.; OLIVEIRA, M. do S.P. de; FARIAS NETO, J.T.; ROGEZ, H.L.G. **Açaí: manejo, produção e processamento**. Fortaleza: Instituto Frutal, 2006. p.14-67.

SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; GUEDES R. S.; SILVA, R. A.; FERMINO JR, P. C. P.; LUIS, Z. G.; FREITAS, E. O. Somatic embryogenesis and plant regeneration in açai palm (*Euterpe oleracea*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 109, p. 501-508, 2012.

SUTTON B., **Commercial delivery of genetic improvement to conifer plantations using somatic embryogenesis**, INRA, *EDP Sciences* 59, Vancouver – Canada , p. 657–661, 2002.