



EXPRESSÃO GENOTÍPICA DE DENDEZEIROS (*Elaeis guineensis* JACQ.) DURANTE A FORMAÇÃO DE CALOS EMBRIOGÊNICOS 1

Rafael de Carvalho Silva¹; Zanderluce Gomes Luis²; Jonny Everson Scherwinski-Pereira³

¹ Mestrando em Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas – UFAM. E-mail: carvalho_fael@yahoo.com.br. ² Doutoranda em Botânica, Universidade de Brasília – UNB. ³ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – Cenargen, Brasília – DF. E-mail: jonny@cenargen.embrapa.br

RESUMO – O dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.) é a oleaginosa mais produtiva comparada com às demais, com rendimento de óleo entre 5 a 7 toneladas por hectare. Este trabalho teve como objetivo avaliar a expressão genotípica de dendezeiros durante a formação de calos embriogênicos a partir de embriões zigóticos. Foram utilizados embriões zigóticos obtidos de frutos maduros, coletados de plantas adultas de nove genótipos: C2001, C2328, C2301, C3701, CM1115, C7201, C2528, C2501 e CN1637. Inicialmente, as sementes foram esterilizadas e os embriões zigóticos foram inoculados em meio de cultura para a indução de calos. Os embriões foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25±2°C, em condição de escuro durante 150 dias, com subcultivos a cada 30 dias. A cada subcultivo foi determinada a porcentagem de explantes com formação de calo embriogênico. De maneira geral, aos 150 dias de cultivo em meio de cultura de indução, os explantes dos diferentes genótipos apresentaram diferenças significativas nas taxas de formação de calos embriogênicos, com valores superiores (entre 90% e 100%) quanto à formação de calos para os genótipos C2501, C2001, C7201, C2528, C2328 e C3701, verificando que para o dendezeiro diferentes genótipos apresentam respostas diferenciadas *in vitro*, mesmo quando cultivados sob condições ambientais e nutricionais semelhantes.

Palavras-chave – *Elaeis guineensis*, micropropagação, genótipo, clonagem.

INTRODUÇÃO

O dendezeiro (*Elaeis guineensis* JACQ.) é cultivado em muitos países tropicais da Ásia, África e da América do Sul, constituindo-se como uma das principais fontes de óleo vegetal. É a oleaginosa mais produtiva comparativa às demais, com rendimentos de óleo entre 5 a 7 toneladas por hectare (Rajesh *et al.*, 2003), possuindo características químicas, como os ácidos oléico (52%) e linoléico (11%) (Miranda *et al.*, 2000), que são responsáveis por até 80% da composição do petróleo (Deore & Johnson, 2008).

¹ CNPq; Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Cenargen.





Em razão desse potencial econômico do biodiesel diversos programas de melhoramento do dendzeiro têm surgido pelo mundo, com destaque à Instituições sediadas em países do Continente Asiático e da America Latina. O programa conduzido pelo Brasil baseia-se fundamentalmente na coleção de germoplasma na Bacia do Rio Amazonas (Embrapa Amazônia Ocidental) introduzido em razão de parcerias entre a Embrapa e Cirad (França) (Pandolfo, 1981) em meados dos anos 80. Apesar de mais de 20 anos de trabalhos, ainda é baixo o número de materiais selecionados, melhorados e lançados convencionalmente, em razão do longo ciclo da cultura (Low *et al.*, 2008). Assim, uma preocupação observada nos programas de melhoramento da espécie refere-se à multiplicação dos genótipos selecionados, visto que a principal forma de propagação é via sementes (Scherwinski-Pereira *et al.*, 2010).

Dentre as diferentes técnicas de propagação *in vitro*, a embriogênese somática é sem dúvida a mais indicada para a clonagem de palmeiras (Teixeira *et al.*, 1993; Ledo *et al.*, 2002). Esta técnica envolve a regeneração de plantas por meio de embriões a partir de tecidos somáticos desde que condições especiais de crescimento, como meios de cultura, reguladores de crescimento e condições ambientais sejam fornecidos adequadamente aos cultivos (Guerra *et al.*, 1999). Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo avaliar a expressão genotípica durante a formação de calos embriogênicos a partir de embriões zigóticos em dendzeiros (*Elaeis guineensis* Jacq.).

METODOLOGIA

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos II da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em Brasília – DF. Para o trabalho foram utilizados embriões zigóticos obtidos de frutos maduros de dendê, coletados de plantas adultas de nove genótipos: C2001, C2328, C2301, C3701, CM1115, C7201, C2528, C2501 e CN1637, cedidos gentilmente pelo Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Amazônia Ocidental, em Manaus – AM.

Inicialmente, o endocarpo das sementes foi removido para a obtenção das amêndoas. Posteriormente, em capela de fluxo laminar as amêndoas foram imersas em etanol 70% por três minutos, seguido de 20 minutos em solução de hipoclorito de sódio 2,5% (solução comercial), e tríplice lavagem em água destilada e autoclavada. Os embriões zigóticos foram então removidos com o auxílio de pinça e bisturi e inoculados em meio de cultura de indução de calos (MMBD), conforme descrito por Balzon (2008), sendo posteriormente autoclavado a 121°C e 1,3 atm. de pressão por 20 minutos.





Os embriões foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, em condição de escuro durante 150 dias, com subcultivos a cada 30 dias. A cada subcultivo foi determinada a percentagem de explantes com formação de calo embriogênico. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, composto por nove genótipos com cinco repetições, sendo cada parcela formada por 10 embriões zigóticos. Os dados obtidos foram analisados com o emprego do programa de análises estatísticas SANEST (Zonta & Machado, 1984), com as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos 30 dias de cultivo em meio de indução, os genótipos C2501, C7201 e C2528 começaram a formar calo primário na região proximal do explante em 2,8%, 0,4% e 1,6% respectivamente dos explantes em cultivo (Tabela 1), não diferindo estatisticamente, porém, dos demais genótipos que não apresentaram formação de calo neste período. No entanto, de maneira geral os embriões zigóticos intumesceram duplicando de tamanho.

Em todos os genótipos houve a formação de calo primário aos 60 dias de cultivo (Tabela 1). Ainda neste período, verificou-se a abertura da região proximal do explante, fato que possibilitou a formação de calos primários nessa região. Nesse período foi possível classificar os genótipos em dois grupos quanto à percentagem de calo: o primeiro grupo composto pelos genótipos C2001, C2501, C2528 e C3701, que apresentaram formação de calo primário entre 54% e 81% dos explantes, valores significativamente superiores àqueles observados para o segundo grupo formado pelos genótipos C7201, C2328, C2301, CN1637 e CM1115 que apresentaram valores de formação de calo primário entre 7% e 30% (Tabela 1).

Já aos 90 dias de cultivo os genótipos mostraram-se mais homogêneos quanto à percentagem de calo formado (Tabela 1). De maneira geral, não foram observadas diferenças significativas entre os genótipos, com exceção dos genótipos C7201, C2301 e CN1637 que apresentaram valores para formação de calos primários estatisticamente inferiores aos demais. Neste período, os calos primários apresentavam-se compactos, de aspecto nodular e coloração amarelo-claro, estendendo-se por toda a região proximal do explante. Moura et al. (2009b) observaram dois tipos de calo na indução da embriogênese somática a partir de embriões zigóticos em *Acrocomia aculeata*: o calo tipo I com aspecto friável, e o calo tipo II com aspecto nodular e coloração amarelada. Para esses autores somente o calo tipo II foi considerado calo embriogênico.





De maneira geral, a partir dos 120 dias de cultivo em meio de indução, os explantes dos diferentes genótipos testados não mais apresentaram melhorias significativas nas taxas de formação de calos nos explantes estabelecidos, sugerindo ser desnecessário o prolongamento desta etapa de indução de calos até os 150 dias. No entanto, entre os genótipos verificaram-se diferenças significativas nas taxas de formação de calos aos 150 dias de cultivo, com valores significativamente superiores (entre 90% e 100%) quanto a formação de calos para os genótipos C2501, C2001, C7201, C2528, C2328 e C3701 (Tabela 1).

CONCLUSÃO

- Os genótipos de dendzeiro C2501, C2001, C7201, C2528, C2328 e C3701 apresentam maior frequência de formação de calos que os demais, com valores entre 90% e 100%;
- Diferentes genótipos de dendzeiro apresentam respostas diferenciadas *in vitro*, mesmo quando cultivados sob condições ambientais e nutricionais semelhantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALZON, T. Germinação, indução da embriogênese somática e avaliação morfo-histológica da multiplicação *in vitro* de calos embriogênicos obtidos a partir de embriões zigóticos de dendzeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.). Projeto Final de Estágio Supervisionado. Universidade de Brasília. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília-DF, 49p., 2008.

DEORE A.J. & JOHNSON T.S. High frequency plant regeneration from leaf-disc cultures of *Jatropha curcas* L.: an important biodiesel crop, *Plant Biotechnol Rep.*, 2008.

LEDO, A. da S.; LAMEIRA, O. A.; BENBADIS, A. K.; MENEZES, I. C. de; OLIVEIRA, M. do S. P. de; FILHO, S. M. Embriogênese somática em embriões zigóticos de *Euterpe oleracea* Mart. *Revista Brasileira Fruticultura*, vol.24 nº.3 Jaboticabal Dec. 2002.

LOW, E., ALIAS, H., BOON, S., SHARIFF, E.M., TAN, C.A., OOI, L.C., CHEAH, S., RAHA, A., WAN, K., SINGH, R. Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) tissue culture ESTs: Identifying genes associated with callogenesis and embryogenesis. *Plant Biology*, 8:62 doi:10.1186/1471-2229-8-62, 2008

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Produção e Agroenergia. Plano Nacional de Agroenergia, 2006-2011, 2ª edição revisada. Brasília, DF, 2006.





MIRANDA, R. de M.; MOURA, R.D – Óleo de dendê, alternativa ao óleo diesel como combustível para geradores de energia em comunidade da Amazônia. Anais 3º Encontro de Energia do Meio Rural. Sept. Embrapa Amazônia Ocidental - Manaus-AM- 2000.

MOURA, E.F., MOTOIKE, S.Y., VENTRELLA, M.C., JUNIOR, A.Q.S., CARVALHO, M. Somatic embryogenesis in macaw palm (*Acrocomia aculeata*) from zygotic embryos. *Scientia Horticulturae* 119: 447–454, 2009b.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum*, Copenhagen, v. 15, p. 473-479, 1962.

PANDOLFO, C.A. A cultura do dendê na Amazônia. Belém: SUDAM, 35p., 1981.

RAJESH, M.K.; RADHA, E., KARUN, A., PARTHASARATHY, V.A. Plant regeneration from embryo-derived callus of oil palm – the effect of exogenous polyamines. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 75: 41-47, 2003.

SCHERWINSKI-PEREIRA, J.E.; GUEDES, R.S.; FERMINO, P.C.P.; SILVA, T.L.; COSTA, F.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. 1-8, 2010.

TEIXEIRA, J.B., SONDAHL, M.R., KIRB, E.G. Somatic embryogenesis from immature zygotic embryos of oil palm. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 34: 227-233, 1993..

ZONA, E.P.; MACHADO, A.A. SANEST: sistema de análise estatística para microcomputadores. Pelotas: UFPel, 1984. 138p.

Tabela 9 - Respostas genóticas na indução de calos embriogênicos em embriões zigóticos maduros de dendezeiros, em razão do período de cultivo em dias

Genótipo	Porcentagem de calos/dias de cultivo					
	0	30	60	90	120	150
C2501	-	2,82aC	66,94abB	73,22abB	100aA	100aA
C2001	-	0aB	81,06aA	81,06aA	99,14aA	99,14aA
C7201	-	0,41aC	23,21cdB	35,92bcB	100aA	100aA
C2528	-	1,64aB	68,82abA	80,41aA	95,17aA	95,17aA
C2328	-	0aC	29,60bcdB	47,98abcB	99,58aA	99,58aA
C3701	-	0aC	54,02abcB	62,22abAB	90,75abA	90,75abA
C2301	-	0aC	9,72dBC	33,71bcAB	58,49bcA	58,49bcA
CN1637	-	0aC	7,26dBC	16,42bcAB	50,82cA	50,82cA
CM1115	-	0aC	22,26cdB	60,17abA	62,43bcA	62,43bcA

*Médias seguidas por letras distintas dentro de cada item avaliado, minúsculas na vertical (entre os genótipos testados) e maiúsculas na horizontal (entre os dias de avaliação), diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

