

## Embriogênese Somática em Amendoim (*Arachis hypogaea*)

Fernanda Kalina da Silva Monteiro<sup>1</sup>, Julita Maria Frota Chagas Carvalho<sup>2</sup>

### Resumo

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de induzir a embriogênese somática em amendoim a partir dos cultivos *in vitro* realizados com a cultivar BRS Pérola Branca, além de observar o efeito dos reguladores de crescimento na indução dos mesmos e definir um protocolo de regeneração mais eficiente para o amendoim. Para isso, foram feitos meios de cultivo MS (MURASHIGE & SKOOG) para indução, suplementados com sais do meio B5, 3% de sacarose e 0,25% de gelrite. Acrescentaram-se ao meio, de acordo com os tratamentos estabelecidos, os seguintes reguladores de crescimento com suas devidas concentrações: 15 mg.L<sup>-1</sup> e/ou 35 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), 15 mg.L<sup>-1</sup> e/ou 35 mg.L<sup>-1</sup> de Ácido Naftaleno Acético (ANA) e 15 mg.L<sup>-1</sup> e/ou 35 mg.L<sup>-1</sup> de Isopentil Adenina (2iP), além da testemunha sem regulador. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 2 + 1, sendo três reguladores de crescimento (2,4-D, ANA e 2iP), duas concentrações (15 e 35 mg.L<sup>-1</sup>) + 1 testemunha, com dez repetições e dez explantes por placa de Petri.

### Introdução

O cultivo de tecidos pode ser definido como um conjunto de técnicas que permitem a cultura de órgãos, tecidos, células e protoplastos em condições assépticas, empregando meios nutritivos artificiais, com esta técnica tendo sido empregada de diferentes formas no desenvolvimento de cultivares superiores de plantas, podendo oferecer novas alternativas aos programas de melhoramento em suas diferentes fases e, muitas vezes, oferecem soluções únicas (Ferreira, et al., 1998).

O amendoim é uma espécie anual que é conhecida por possuir em sua composição química proteínas de alto valor nutricional e também por ser uma oleaginosa comestível, e a duração do seu ciclo do plantio a maturação pode variar de 80-90 dias a 180 em função do genótipo, sendo que para um mesmo genótipo, há variações em função do ambiente.

A micropropagação *in vitro* oferece condições para obter plantas de difícil propagação e de ciclos de vida longa, em um menor espaço de tempo do que o método convencional, sendo esta técnica realizada sob condições favoráveis de temperatura, umidade, luz, assepsia adequada, oxigênio, entre outros fatores, originando novas plantas a partir da organogênese ou pela embriogênese somática.

Diante disso, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de induzir a embriogênese somática em amendoim a partir dos cultivos *in vitro* realizados com a cultivar BRS Pérola Branca, além de observar o efeito dos reguladores de crescimento na indução dos mesmos e definir um protocolo de regeneração mais eficiente para o amendoim.

### Material e Métodos

A indução da embriogênese somática foi realizada no Laboratório de Cultivo de Tecidos Vegetais da Embrapa Algodão, Campina Grande, Paraíba. Utilizaram-se sementes da cultivar de amendoim BRS Pérola Branca, provenientes de Barbalha, CE.

As sementes utilizadas passaram por duas desinfestações, uma antes da retirada dos eixos embrionários e outra após sua retirada. Para a desinfestação das sementes utilizou-se uma solução de hipoclorito de sódio a 2,5% de cloro ativo, adicionada com uma gota de tween-20 para cada 100mL de solução, e para os eixos embrionários a mesma solução de hipoclorito de sódio. Para retirada do excesso de solução, as sementes foram lavadas três vezes em água esterilizada.

Na câmara de fluxo laminar e com o auxílio de instrumentos cirúrgicos, os embriões zigóticos previamente desinfestados foram inoculados em placas de Petri contendo os diferentes meios de indução. Após a inoculação, as culturas se mantiveram no escuro, em sala de crescimento com temperatura de 25±2°C.

<sup>1</sup> Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual da Paraíba – UEPB/Campina Grande. Bolsista CNPq. E-mail: fernanda.silva.bio@gmail.com

<sup>2</sup> Pesquisadora da Embrapa Algodão/Campina Grande. E-mail: julita@cnpa.embrapa.br

Aos 30 dias cultivo, a avaliação dos explantes foi feita mensurando-se a presença ou não de embriões somáticos e após, subcultivados em meio de rediferenciação, onde permaneceram por 30 dias ainda no escuro.

Os embriões somáticos foram identificados com auxílio de uma lente de aumento 20 x 30 MM. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 2 + 1, sendo três reguladores de crescimento (2,4-D, ANA e 2iP), duas concentrações (15 e 35 mg.L<sup>-1</sup>) + 1 testemunha, com dez repetições e dez explantes por placa de Petri.

### Resultados e Discussão

De acordo com os dados apresentados na tabela 1, observou-se que nos tratamentos onde o meio de cultivo foi adicionado com 35 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D e com 15 mg.L<sup>-1</sup> e 35 mg.L<sup>-1</sup> de 2iP não houve a indução da embriogênese somática. Entretanto, nos tratamentos onde se utilizaram os reguladores de crescimento 2,4-D e ANA na concentração de 15 mg.L<sup>-1</sup> houve a formação de embriões somáticos.

Nos tratamentos em que os meios foram suplementados com 35 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D e 15 mg.L<sup>-1</sup> e 35 mg.L<sup>-1</sup> de 2iP houve apenas a indução de calos nos explantes. Entretanto, na testemunha, não se observou a indução de calos, apenas o crescimento dos mesmos.

Tabela 1. Número médio de embriões somáticos induzidos nas diferentes concentrações de reguladores de crescimento por tratamento.

Concentração dos reguladores de crescimento por tratamento						
Nº médio de embriões somáticos	2,4-D (mg.L <sup>-1</sup> )		ANA (mg.L <sup>-1</sup> )		2iP (mg.L <sup>-1</sup> )	
	15	35	15	35	15	35
	0,32	0	0,18	1,15	0	0

Do exposto, podemos observar que só houve indução da embriogênese somática nos tratamentos suplementados com 15 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D e 15 e 35 mg.L<sup>-1</sup> de ANA.

### Agradecimentos

Agradecemos à Embrapa Algodão e à Universidade Estadual da Paraíba pelo apoio e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão da bolsa de Iniciação científica (Pibic).

### Referências

- Alves, S.A.O. Resgate **in vitro** de híbridos interespecíficos de dendezeiro (*Elaeis guineensis* x *Elaeis oleifera*). Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, 2008. Disponível em: <<http://www.posbot.ufra.edu.br/discentes/>>. Acesso em: 17 set. 2012.
- Bisch, P.M. **Genoma funcional**. In.: Mir, L. **Genômica**. Ed. Atheneu, São Paulo, p.p 159-162, 2004.
- Castro, Lívia Mendes de; Filho, Francisco de Assis Alves Mourão; Mendes, Beatriz Madalena Januzzi; Miyata, Luzia Yuriko. **Embriogênese somática a partir de calos de cultivares de laranja doce**. Ciência Rural, v.40, n.8, ago, 2010.
- Chugh, Archana; Khurana, Paramjit. **Gene expression during somatic embryogenesis – recent advances**. CURRENT SCIENCE, VOL. 83, NO. 6, 25 SEPTEMBER 2002.
- Ferreira, M. A.; Caldas L. S.; Pereira E. A. Aplicações da cultura de tecidos no melhoramento genético de plantas. In: Torres, A. C.; Caldas, L. S.; Buso J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa SPI: Embrapa CNPH. v. 1, p. 21-43, 1998.

Furtado, Cristiane Miranda; Carvalho, Julita Maria Frota Chagas; Castro, Juliana Pereira de; Silva, Humberto. **Comparação da frequência de regeneração *in vitro* do amendoim (*Arachis hipogaea*), utilizando diferentes citocininas.** Revista De Biologia E Ciências da Terra. V.7- Nº 1 - 1º Semestre 2007.

Jiménez, Víctor M. **Involvement of plant hormones and plant growth regulators on in vitro somatic embryogenesis.** Plant Growth Regulation (2005) 47:91–110. Springer, 2005.

Moraes de, S. A. **Amendoim: Principais doenças, manejo integrado e recomendações de controle.** 2006. Disponível em: <http://www.infobibos.com>. Acesso em: 01 de julho, 2011.

Murashige, T.; Skoog, F. **A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture.** Physiologia Plantarum, v. 15, p. 473 – 497, 1962.