

CALOGÊNESE DE TECIDOS FOLIARES DE HÍBRIDOS DE PALMA DE ÓLEO (*Elaeis oleifera* x *E. guineensis*) VISANDO A EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA

Inaê Mariê de Araújo Silva¹; Rennan Oliveira Meira²; Thauan Martins Lelis²; Raimundo Nonato Vieira da Cunha³; Ricardo Lopes³; Jonny Everson Scherwinski-Pereira¹

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, e-mails inaemarie@hotmail.com, jonny.pereira@embrapa.br.

²Universidade de Brasília, e-mails rennan.meira@hotmail.com, thauanlelis98@gmail.com.

³Embrapa Amazônia Ocidental, e-mails: raimundo.cunha@embrapa.br; ricardo.lopes@embrapa.br.

Palavras-chave: CALOS, DENDEZEIRO, MICROPROPAGAÇÃO, PALMITO

Introdução

Elaeis guineensis Jacq. (dendezeiro africano) é uma espécie monocotiledônea pertencente à família Arecaceae, que assume o papel de líder mundial em produtividade de óleo vegetal [1]. A exploração de plantas do gênero *Elaeis* destaca-se ainda pela possibilidade de hibridização entre as espécies *E. guineensis* e o *E. oleifera*. Embora *E. oleifera* apresente baixo rendimento na produção de óleo, essa espécie se destaca pela baixa estatura, resistência a certas doenças e pela qualidade do seu óleo [2]. Todavia, a propagação de *Elaeis* spp. via semente é ineficiente, devido aos baixos percentuais de germinação alcançados [3].

Adicionalmente, as palmeiras apresentam crescimento primário exclusivo e produção de filhotes limitada a poucas espécies, o que não é verificado em *Elaeis* spp. Tais aspectos limitam a aplicação de métodos tradicionais de propagação vegetativa. Nessa conjuntura, as técnicas de cultivo *in vitro*, em especial, a embriogênese somática, se projetam como alternativas promissoras para a propagação clonal do dendezeiro.

Em adição ao uso de embriões zigóticos, tecidos somáticos oriundos de plantas adultas, especialmente folhas jovens, surgem como alternativa de fonte de explante para a propagação clonal de indivíduos já fenotipados em campo, cujas características de interesse agrônomo podem se resumir a um número limitado de plantas. Neste trabalho, objetivou-se avaliar a responsividade de segmentos foliares de dois híbridos interespecíficos de *Elaeis oleifera* x *E. guineensis* quanto à formação de calos visando a embriogênese somática.

Materiais e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos e Genética Vegetal (LCT-II) da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF. Para a indução da embriogênese somática, foram utilizadas folhas imaturas e ainda não expandidas (palmito) (Figura 1A) oriundas de plantas adultas de dois híbridos interespecíficos de *Elaeis oleifera* x *E. guineensis*, B351733 e B352933. Após a assepsia, as folhas foram excisadas em explantes de cerca de 1,0 cm², padronizando-se quatro lâminas de folíolos/explante, os quais foram inoculados em meio de cultura MS [4]. O meio foi suplementado com 450 µM de 4-amino-3,5,6-tricloropicolínico (Picloram), 30 g.L⁻¹ de sacarose, 0,5 g.L⁻¹ de glutamina, 0,5 g.L⁻¹ de

caseína hidrolisada e 2,5 g.L⁻¹ de carvão ativado e gelificado com 2,5 g.L⁻¹ de *Phytigel*. O meio foi autoclavado por 20 minutos à 121 °C e 1,5 atm de pressão.

Os subcultivos foram realizados a cada três meses e as percentagens de oxidação e formação de calos embriogênicos foram obtidas após 180 dias de cultivo. Adotou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, com 20 repetições por genótipo e seis explantes cada. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), por meio do software estatístico R [5].

Resultados e Discussão

Aos 15 dias em meio de cultivo, observou-se a ocorrência de intumescimento dos tecidos foliares de ambos os genótipos testados e a aquisição de textura quebradiça na maioria deles (Figura 1B). Com cerca de 30 dias, início de oxidação foi observada em alguns explantes do genótipo B351733 (Figura 1C). Também foram visualizados cristais nas bordas seccionadas e na extremidade da nervura central (Figura 1D). Os primeiros sinais de calos foram notados aos 45 dias e somente naqueles oriundos do genótipo B351733.

As formações calogênicas foram visualizadas sobre o mesofilo (Figura 1E), nas bordas seccionadas e, eventualmente, sobre a nervura central (Figura 1F) e foram observadas em um número limitado de explantes. Nesse período, notou-se também esverdeamento de alguns explantes de ambos os genótipos (Figura 1E). Os calos observados no genótipo B351733 tornaram-se mais visíveis aos 105 e 90 dias de cultivo, respectivamente (Figura 1G). Nesse mesmo período, não foram observados calos em explantes do genótipo B352932, evidenciando genótipo-dependência. Calos mais pronunciados com formato alongado e consistência compacta foram visualizados sobre alguns poucos explantes do genótipo B351733, aos 120 dias de cultivo (Figura 1H).

Aos 180 dias, os calos tornaram-se mais volumosos e foram observados, sobretudo, sobre as lâminas foliares, nas bordas seccionadas e na nervura principal do genótipo B351733. Nesse período, foram observados dois tipos de calos: calos alongados com coloração variando entre amarelo e bege (Figura 1I, J), se projetando para as laterais do explante, e calos arredondados com coloração variando entre branco e bege, visualizados em menor quantidade e se projetando sobre o mesofilo (Figura 1K, L); ambos os calos com consistência compacta e, de acordo com análises anatômicas (dados não mostrados), considerados potencialmente embriogênicos. Alguns calos com formato alongado exibiam uma capa mucilaginosa (Figura 1J).

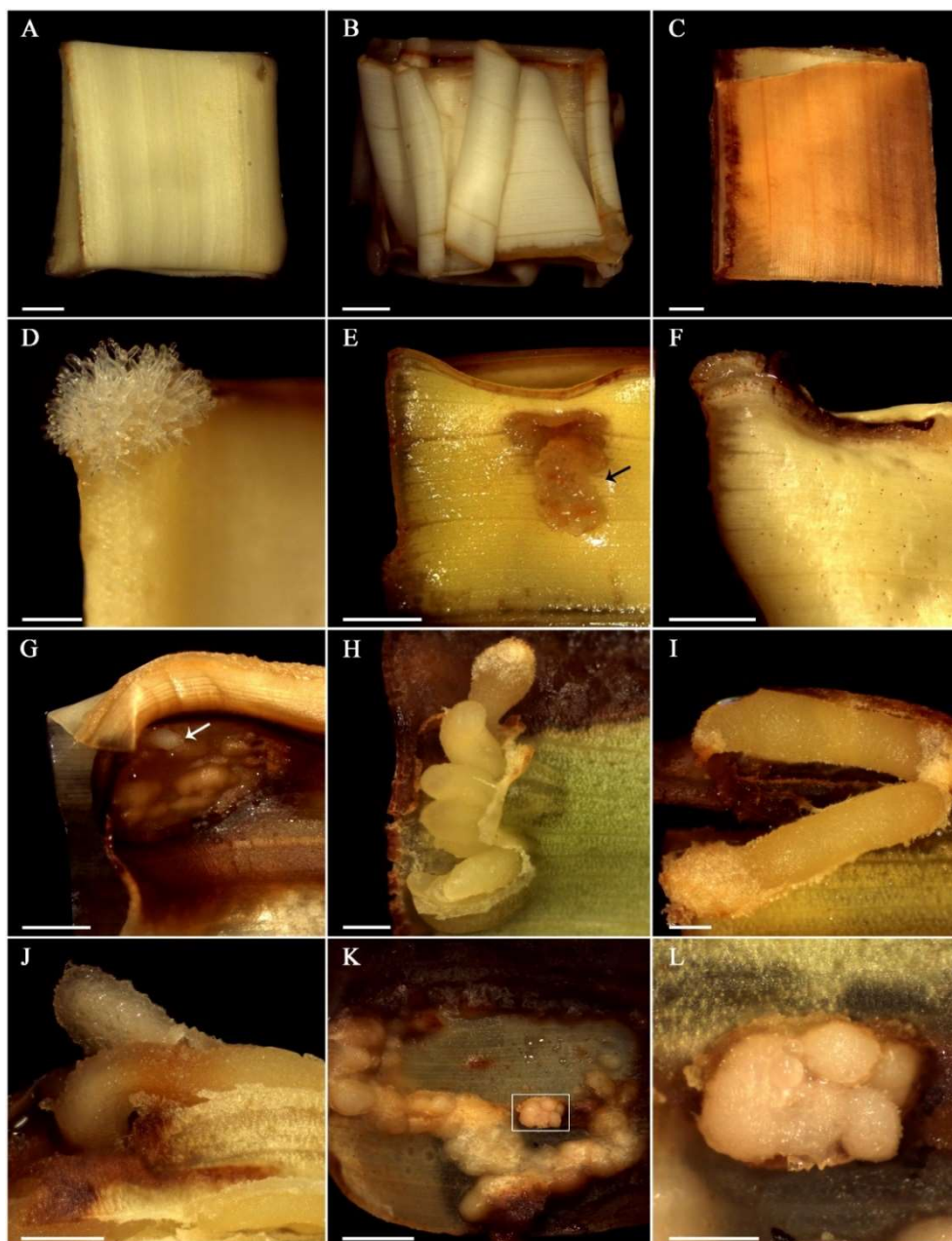


Figura 1: Aspectos morfológicos da indução de calos a partir de explantes foliares de híbridos interespecíficos de *Elaeis oleifera* × *E. guineensis* visando a embriogênese somática. A: Explante antes da inoculação. B: Explante intumescido após 15 dias de cultivo. C: Explante do genótipo responsivo com folha superior oxidada após 30 dias de cultivo. D: Explante do genótipo não responsivo com cristais na extremidade da nervura principal após 30 dias de cultivo. E, F: Formações calogênicas incipientes após 45 dias em meio de indução observadas em explantes do genótipo responsivo. G: Início de formação de calo alongado observado aos 105 dias de cultivo. H, I: Calos alongados visualizados aos 120 e 180 dias de cultivo, respectivamente. J: Calos alongados com capa mucilaginosa visualizados aos 180 dias de cultivo. K: Calos nodulares observados após 180 dias de cultivo. L: Detalhe da letra K. Escalas = A-C, E-H, K: 2 mm; J: 1 mm e D, I, L: 0,5 mm.

Aos 180 dias, verificou-se ocorrência de oxidação e formação de calos embriogênicos somente em explantes do genótipo B351733, com valores médios de 35,8% e 15%, respectivamente. O percentual de calos obtido para genótipo híbrido B35173 corrobora com o relatado por Sumaryono *et al.* [2], que obtiveram, a partir de segmentos foliares de um híbrido de *Elaeis oleifera* × *E. guineensis*, uma taxa máxima de formação de calos de 18,9%. Esses

resultados também não se distanciam daqueles mencionados para genótipos de *E. guineensis*. De acordo com Corrêa *et al.* [6], a depender do genótipo utilizado, cerca de 1 a 52% dos explantes foliares imaturos de *E. guineensis* formam calos, após 12 semanas de cultivo.

Conclusões

Conclui-se a ocorrência de baixa taxa calogênica e genótipo-dependência com relação aos genótipos de dendezeiro híbridos interespecíficos testados. Nesse sentido, salienta-se a necessidade da realização de estudos mais detalhados com enfoque em aspectos bioquímicos e moleculares envolvidos com o processo, de modo a estabelecer estratégias que sobreponham a recalcitrância de genótipos importantes economicamente.

Referências Bibliográficas

- [1] VILLELA, A. A.; JACCOUD, D. B.; ROSA, L. P.; FREITAS, M. V. Status and prospects of oil palm in the Brazilian Amazon. **Biomass and Bioenergy**, v. 67, p. 270-278, 2014.
- [2] SUMARYONO; RIYADI, I.; SAPTARI, R. T.; RAHMADI, H. Y.; ERNAYUNITA. Embryogenic callus initiation from leaf explants of *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis* (OxG) hybrids. In: International Biotechnology Conference on Estate Crops, 2017, Bali. **Resumo** [...]. Bali: Series Earth and Environmental Science, 2018. n. 183.
- [3] PÁDUA, M. S.; PAIVA, L. V.; LABORY, C. R. G.; ALVES, E.; STEIN, V. C. Induction and characterization of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) pro-embryogenic masses. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 4, p. 1545-1556, 2013.
- [4] MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, 473-497, 1962.
- [5] R CORE TEAM (2015). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- [6] CORRÊA, T.R.; MOTOIKE, S.Y.; ANDRADE, A.P.S.; COSER, S.M.; QUEIROZ, V.; GRANJA, M.M.C.; *et al.* Accelerated in vitro propagation of elite oil palm genotypes (*Elaeis guineensis* Jacq.) by substituting cytokinin with putrescine. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 50, p. 2767-2775, 2016.