

ANÁLISE ULTRA-ESTRUTURAL DE CALOS EMBRIOGÊNICOS  
DE DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* Jacq.)

MARLÚCIA SOUZA PÁDUA<sup>1</sup>, LUIZ GUSTAVO TEXEIRA DA SILVA<sup>2</sup>, LUCIANO VILELA  
PAIVA<sup>3</sup>, VANESSA CRISTINA STEIN<sup>4</sup>, EDUARDO ALVES<sup>5</sup>

**RESUMO**

O dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.) é uma palmeira de expressiva importância econômica devido ao seu elevado rendimento de óleo, o que o torna promissor para a produção de biocombustível. A cultura de tecidos vegetais é uma alternativa para este tipo de cultura que possui características biológicas, como a presença de um único meristema apical, que impossibilita a propagação em larga escala por métodos convencionais. Na cultura de tecidos existe o método direto e indireto para o desenvolvimento de embriões via embriogênese somática. O método indireto é mais indicado para produção em larga escala, e durante a calogênese é importante o estudo das características das células do calo, através da análise ultra-estrutural, para inferir o seu potencial embriogênico e otimizar protocolos de regeneração *in vitro*. Este trabalho foi realizado com o objetivo de analisar características embriogênicas em calos de *Elaeis guineensis*. Os calos foram induzidos em meio LCBM01, posteriormente transferidos para meio LCBM02 e então coletados e preparados para observação em microscópio eletrônico de transmissão de acordo com Alves (2004). Os calos de dendê apresentaram núcleo grande com nucléolo proeminente, mitocôndrias e amiloplastos que caracterizam células embriogênicas.

**Palavras-chave:** Microscopia eletrônica de transmissão, Características embriogênicas, Cultura de tecidos.

**INTRODUÇÃO**

---

<sup>1</sup> Mestranda em Biotecnologia Vegetal, DQI/UFLA, marlucibio@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Mestre Pesquisador, LCBM/UFLA, lgustavo@lavras.com.br

<sup>3</sup> Professor Associado, DQI/UFLA, luciano@dqi.ufla.br

<sup>4</sup> Professora Adjunta, DBI/UFG, vanessa.stein@hotmail.com

<sup>5</sup> Professor Adjunto, DFP/UFLA, ealves@ufla.br

O dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.), pertence à família Arecaceae, foi introduzido no Brasil no século 17 e se caracteriza como uma monocotiledônea perene, oleaginosa, de longo ciclo de vida (MORCILLO et al, 2007).

Devido ao grande valor comercial do óleo de dendê, diversas técnicas de melhoramento tradicional vêm sendo desenvolvidas, ao longo dos anos, visando à obtenção de híbridos de alto rendimento e plantas selecionadas. Porém essas técnicas não se mostram tão eficazes quando o objetivo é a produção de plantas em larga escala.

Este fato se deve às características biológicas do dendezeiro, que não permitem a propagação vegetativa da cultura por meio do plantio convencional. A falta de formação de ramos secundários nesta espécie, por possuir um único meristema apical, exclui a possibilidade de multiplicação vegetativa natural e requer o desenvolvimento de processos de micropropagação *in vitro* que explorem a totipotência das células vegetais (MORCILLO et al, 2007).

O dendezeiro possui maior produtividade de óleo entre as plantas oleogionosas, característica importante para produção de biodiesel. Segundo Lin et al (2009) o dendezeiro é a maior fonte de óleo vegetal comestível e se tornou a principal fonte mundial de óleo vegetal. Devido a este fato sua propagação é de grande importância na economia mundial (MORCILLO et al, 2007).

A fim de diminuir o tempo necessário para divulgar genótipos elites provindos de programas de melhoramento, a multiplicação vegetativa *in vitro* pode ser utilizada. Devido às suas características biológicas o método promissor para a multiplicação de óleo de palma é por embriogênese somática (SE) *in vitro* através de calos derivados de diferentes fontes de tecidos (ZIMMERMAN, 1993; ROOWI et al, 2010). A embriogênese somática indireta possui inúmeras vantagens, sendo a principal a produção em larga escala (NOGUEIRA, 2006).

Nessa via indireta a identificação dos calos embriogênicos e nãoembriogênicos é importante para a otimização de protocolos de indução e propagação. Durante o processo de embriogênese somática indireta, o estudo do calo também permite a obtenção de maior número de plantas e auxilia na análise da ocorrência de variações somaclonais, importante para uso futuro em programas de melhoramento genético (GRANDO et al., 1993).

Este trabalho teve o objetivo de analisar a presença de características embriogênicas em células de calos de *Elaeis guineensis*, através de microscopia eletrônica de transmissão.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Calos de dendê foram induzidos em meio de cultura LCBM01 a partir da inflorescência feminina, e posteriormente a obtenção os calos foram repicados para meio LCBM02. Após 6 meses em meio LCBM02 os calos foram coletados e imersos em solução fixadora Karnovisk (pH 7,2) por um período mínimo de 24 h. Posteriormente, as amostras foram lavadas em tampão cacodilato por três vezes e pós-fixadas em solução aquosa de tetróxido de ósmio 1% por 4 horas em temperatura

ambiente. Após este período, foram lavadas por três vezes em água destilada e em seguida desidratadas em acetona (25, 50, 75, 90 e 100 % por três vezes). Posteriormente foi realizada inclusão em resina inicialmente a 30% por 8 h e, em seguida, resina 70%. Após 12 h, as amostras passaram duas vezes por resina 100% por 24 h cada vez, sendo o material colocado em molde adequado e conduzido para polimerização em estufa a 70°C por 48 h. Após a ultramicrotomia, as secções ultrafinas foram conduzidas para telas e procedeu-se a contrastação em acetato de uranila e citrato de chumbo. A observação dos espécimes foi realizada em Microscópio Eletrônico de Transmissão Zeiss EM 109, localizado no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-estrutural (LME) no Departamento de Fitopatologia da UFLA.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através das observações em Microscópio eletrônico de Transmissão (MET) notou-se que as células do calo apresentaram citoplasma denso, núcleo organizado com nucléolo proeminente, grande quantidade de amiloplastídeo, muitas mitocôndrias de formato arredondado e o complexo Golgiense (Figura 1).

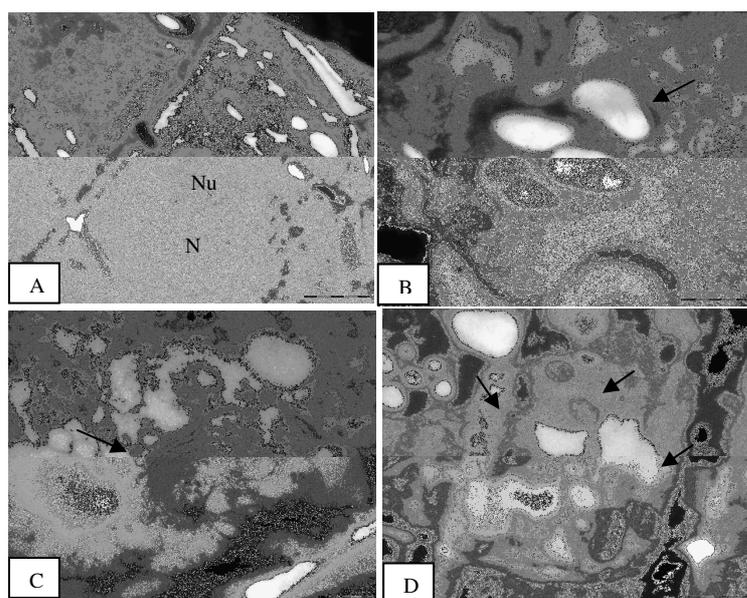


Figura 1 - Eletromicrografia de transmissão de células obtidas de calo de *Elaeis guineensis* apresentando núcleo (N) e nucléolo (Nu) (A), presença de amiloplastídeos (seta preta) (B), complexo Golgiense (seta preta) (C) e muitas mitocôndrias (setas pretas) (D).

Observações semelhantes às obtidas foram realizadas por Canhoto et al. (1996) em *Feijoa sellowiana*, cujas células embriogênicas apresentaram núcleo bem desenvolvido com nucléolo

proeminente e grânulos de amido. A presença de muitas mitocôndrias caracteriza alta atividade respiratória das células, inferindo a presença de células jovens em alta atividade metabólica.

Bobák et al. (2004) e Nakamura e colaboradores (1994), estudando células de calos de *Drosera spathulata* e embriões somáticos de *Coffea* cvs. Mundo Novo e Catuaí Amarelo, respectivamente, através da MET encontraram plastídeos cheios de amido. Numerosos grãos de amido também foram observados em células embriogênicas de calos de *Gentiana punctata* por Mikula et al. (2004), relacionando este padrão bioquímico como fonte primária de energia necessária para a intensa divisão celular e para o desenvolvimento dos embriões (CANGAHUALA-INOCENTE et. al, 2004). Segundo Martin et. al (2000), o consumo dos grãos de amido promove energia para o desenvolvimento do embrião somático, sugerindo uma ativa regulação do acúmulo de grãos de amido em calos embriogênicos.

## CONCLUSÃO

Os calos de dendê (*Elaeis guineensis*) através das análises por MET apresentaram características embriogênicas o que infere que estes calos possuem capacidade de gerar plantas via embriogênese somática.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, à CAPES e à FAPEMIG.

## REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO

ALVES, E. **Apostila do curso introdutório de Microscopia Eletrônica de Varredura**. Lavras: UFLA, 2004. 43 p. Apostila.

BOBÁK, M. et al.. The histological analysis of indirect somatic embryogenesis on *Drosera spathulata* Labill. **Acta Physiologiae Plantarum**, Berlin, v. 26, n.3, p.353-361, may. 2004.

CANGAHUALA-INOCENTE, G. C. et al. Competência embriogênica em tecidos florais de *Acca sellowiana* (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 87-89, jul. 2007.

CANHOTO, J. M.; MESQUITA, J. F.; CRUZ, G. S. Ultrastructural Changes in Cotyledons of Pineapple Guava (Myrtaceae) During Somatic Embryogenesis. **Annals of Botany**, Oxford, v. 78, p.513-521, may. 1996.

GRANDO, M. F., EICHLER, L.; TANABE, C. R.; SANTOS, J. F. dos; SANTOS, C. M. dos. Indução de calos e regeneração de plantas em três genótipos de aveia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.5, n. 2, p.139-144, jul. 1993.

LIN, H. C.; MORCILLO, F.; DUSSERT, S.; TRABCHABT-DUBREUILT, C.; TREGGAR, J.W.; TRANBARGER, T. J. Transcriptome analysis during somatic embryogenesis of the tropical monocot *Elaeis guineensis*: evidence for conserved gene functions in early development. **Plant Molecular Biology** [S.I.], v. 70, n. 1-2, p. 173-192, May 2009.

MIKULA, A. et al. Ultrastructural changes in zygotic embryos of *gentiana punctata* L. during callus formation and somatic embryogenesis. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica**, Cracow, v. 46, p.109–120, 2004.

MORCILLO, F.; Gallard, A. Pillot, M; Jouannic, S.; Aberlenc-Bertossi, F; Collin M.; Verdeil, J. L.; Tregear, J. W. EgAP2-1, an AINTEGUMENTA-like (AIL) gene expressed in meristematic and proliferating tissues of embryos in oil palm. **Planta** [S.I.], v. 226, n. 6, p. 1353-1362, nov. 2007.

NAKAMURA, T.; TANIGUCHI, T.; MAEDA, E. Cyto-histological studies on somatic embryos of Coffee: Ultrastructural Aspects. **Japanese Journal of Crop Science**, *Nagoya, Japan* v. 63, n. 1, p. 144-157, july.1994.

NOGUEIRA, R. C. et al. Análise ultra-estrutural de calos embriogênicos de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, p.48-50, jul. 2007.

ROOWI, S., H.; HO, C. L.; ALWEE, S., S., R., S. S.; ABDULLAH, M. O., A; NAPIS, S. Isolation and Characterization of Differentially Expressed Transcripts from the Suspension Cells of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) in Response to Different Concentration of Auxins. **Molecular Biotechnology**, apr. 2010

ZIMMERMAN, J. L. Somatic embryogenesis – A model for early development in higher-Plants. **Plant Cell** [S.I.], v. 5, n. 10, p. 1411-1423, oct. 1993.