



*João de Deus Medeiros  
Chefe do Departamento de Ciências  
Biológicas da Universidade Federal  
de Santa Catarina e Membro do  
Conselho Federal de Biologia*

## EMBRIÓIDES EM PLANTAS SUPERIORES

**E**mbrioidogênese é uma forma peculiar de formação e desenvolvimento de um esporófito, num processo de reprodução homofásico (esporófito-esporófito). Considerando-se o embrióide como uma unidade estrutural de reprodução, poderíamos falar no tipo embrioidogênico de reprodução assexual, como propõe Batygina (1987). Maheshwari (1950), um dos embriologistas mais influentes deste século, foi um dos primeiros a notar algumas diferenças entre embriões adventícios e sexuais. A descoberta de uma estrutura semelhante a um embrião, em culturas de tecidos *in vitro* de *Daucus carota* (cenoura) por Steward et al. (1958), suscitou grande interesse biológico e estimulou o desenvolvimento de uma série de estudos posteriores, associados com a diferenciação de embrióides, embriões foliares, gemas adventícias, os quais culminaram com diferentes e instigantes conclusões. Com a análise dos dados disponíveis, foi possível estabelecer uma caracterização mais completa do “embrióide”, e consolidar a hipótese da embrioidogênese como um modo específico e peculiar de reprodução esporofítica.

Embrióide, na definição de Batygina (1988), é uma estrutura bipolar semelhante a um embrião, com o desenvolvimento conjugado de ápices caulinares e radiculares, em suma o rudimento de um novo indivíduo. Forma-se assexuadamente a partir de uma célula somática, mas pode também originar-se de um complexo celular embriônico,

originado a partir de um meristema primário ou secundário. Os embrióides diferem dos embriões sexuais e apomíticos não apenas por sua origem distinta, mas também por uma diferenciação mais lenta e irregular, notadamente nas fases iniciais do seu desenvolvimento. De um modo geral, pelo menos os casos descritos do fenômeno da pseudoviviparidade, associados com a formação de gemas e embriões foliares, poderiam ser categorizados como embrióides.

O principal critério para distinguir embrióides e gemas adventícias não se situa na diferença de origem, mas no fato do embrióide não ser parte da planta, já que estes não estão conectados com o organismo materno por um sistema vascular comum. Embrióides originam-se em diferentes estruturas, e nos mais diversos estágios do desenvolvimento ontogenético, desde as fases iniciais, como no zigoto e embrião, até as estruturas florais, tanto *in situ*, *in vivo* quanto *in vitro*.

Considerando o processo embrioidogênico de reprodução, é possível estabelecer as seguintes categorias de heterogeneidade em sementes: sementes contendo embriões sexuais; sementes contendo apenas embrióides originados a partir do esporófito materno (embrioidogenia tegumentar e nucelar); sementes contendo embrióides originados do esporófito-filho (embriogenia embriônica); sementes contendo embrião sexual e embrióides de diferentes origens.

A produção de embrióides mostra-se promissora ferramenta para utilização

em programas de melhoramento vegetal com fins diversos. Na “exploração” dos diferentes níveis de variabilidade visando a obtenção de genótipos melhorados, a seleção de embrióides amplifica e otimiza o trabalho de seleção. Em determinadas plantas, como os cereais de interesse agrícola, os embrióides podem ser repicados para um novo meio de cultura, passando a produzir grande quantidade de material vegetal. A partir deste material, calos embrioidogênicos podem ser selecionados para o desenvolvimento dos chamados embrióides adventícios secundários. Estes embrióides apresentam um padrão de diferenciação similar àquele observado nos embrióides primários, que são aqueles obtidos diretamente da cultura de partes do esporófito.

Uma das mais significativas contribuições do cultivo de embrióides, que abriu um enorme potencial para os programas de melhoramento vegetal, bem como para pesquisas básicas e aplicadas em genética, refere-se à cultura de anteras para produção dos embrióides. Estes embrióides, originados a partir dos grãos

de pólen, desenvolvem plântulas haplóides. Os estudos pioneiros na área foram desenvolvidos por Shimakura, em 1934, e Guha & Maheshwari, em 1964 (ver Bhojwani & Bhatnagar, 1981). Para obtenção de haplóides a partir de micrósporos ou grãos de pólen, em geral cultiva-se em meio nutritivo asséptico toda a antera. Na cultura de anteras, dependendo da espécie e da composição do meio, o grão de pólen pode originar diretamente os embrióides, ou inicialmente produzir um calo, a partir do qual poderão ser regeneradas as plântulas haplóides. Temperatura, idade da planta, idade da antera cultivada e composição do meio de cultura são os fatores que mais significativamente influenciam o resultado no processo de produção de embrióides haplóides.

No processo de microsporogênese, o padrão de divisão dos micrósporos é assimétrico, originando uma pequena célula geradora e uma célula vegetativa proporcionalmente bem maior. Assim, inicialmente questionou-se a origem dos embrióides produzidos a partir de cultu-

ra de anteras: o esporófito formado originou-se da célula geradora ou da célula vegetativa? Após detalhadas investigações citológicas, mostrou-se que em diversas espécies a célula vegetativa e a geradora são formadas normalmente, e que os embrióides são derivados da célula vegetativa. Diversos estudos posteriores confirmaram este processo, contudo a ampliação das investigações demonstrando que através da cultura de anteras o micrósporo pode formar esporófitos através de três vias distintas:

1. A célula-mãe do micrósporo sofre uma divisão simétrica, não diferenciando células geradora e vegetativa, e as duas células contribuem na formação do esporófito;

2. A divisão é assimétrica, e o esporófito origina-se da célula vegetativa;

3. A divisão é assimétrica, e tanto a célula geradora quanto a vegetativa contribuem na formação do esporófito.

Independente do padrão de divi-

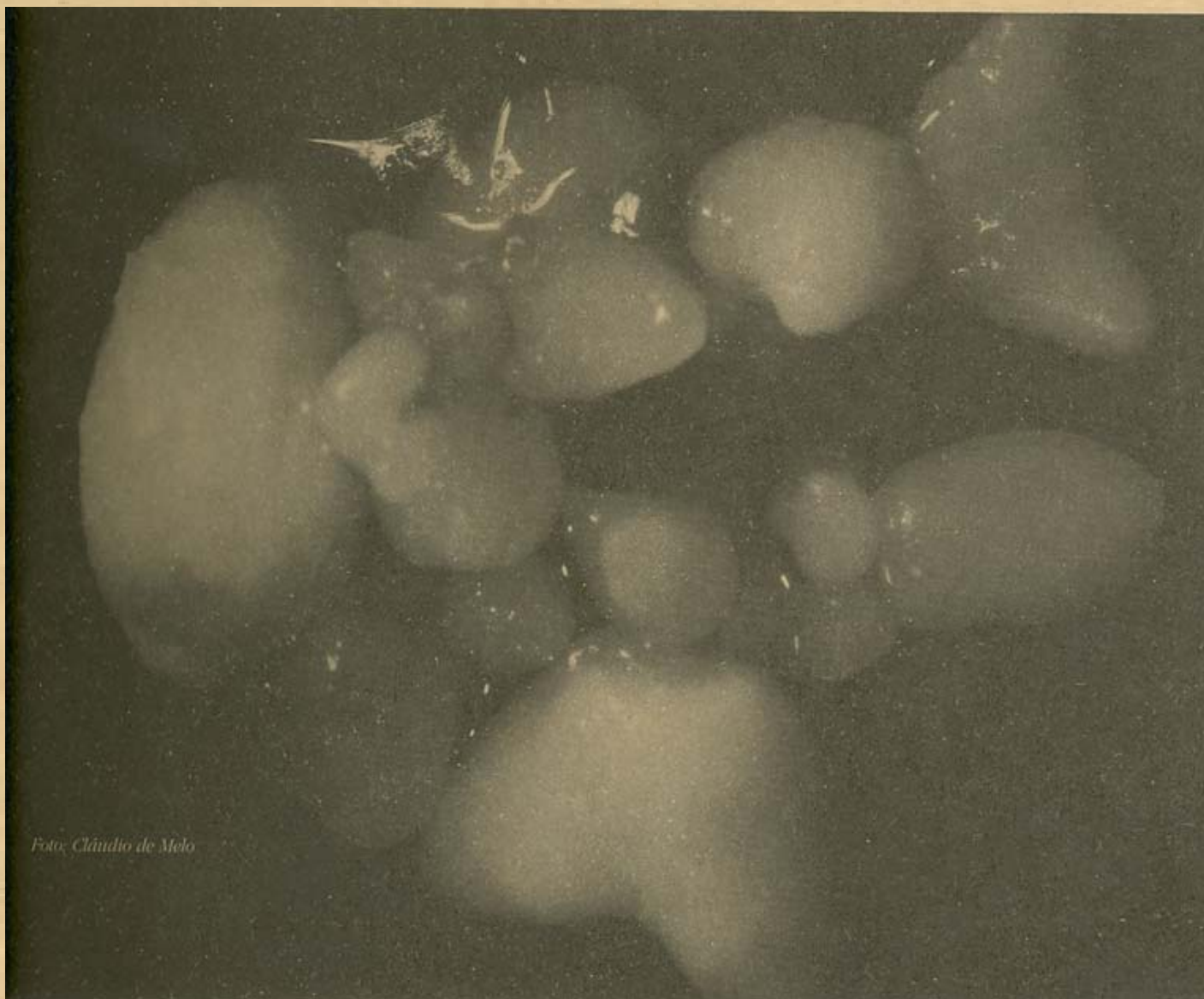


Foto: Cláudio de Melo

sões iniciais, uma massa multicelular é formada. Em determinadas espécies, esta massa celular gradualmente assume a forma de um embrião globular, e experimenta um processo posterior de diferenciação similar àquele observado no processo de embriogênese normal. Através desta via, uma única planta haplóide é derivada de cada micrósporo. Na maioria dos casos, contudo, a proliferação de células conduz à formação de um calo, a partir do qual numerosos esporófitos podem ser diferenciados, os quais podem ser mixplóides ( $2n$ ,  $3n$  ou mais), em decorrência do conhecido fenômeno da endopoliploidia em células de calos.

Os diversos grãos de pólen no interior do microsporângio constituem uma população altamente heterogênea geneticamente; assim as plantas haplóides obtidas a partir da cultura de anteras também vão externalizar esta heterogeneidade. Se o fenômeno da heterogeneidade é indesejável, o problema pode ser contornado com a cultura de grãos de pólen isolados. Em 1972 Sharp e colaboradores (apud Bhojwani & Bhatnagar, 1981) obtiveram sucesso na produção de clones haplóides a partir da cultura de grãos de pólen isolados de tomate. Posteriormente, Nitsch (1974) desenvolveu um meio puramente sintético para originar plantas haplóides a partir da cultura de grãos de pólen isolados. Os ingredientes especiais deste meio de cultura são glutamina, L-serina e inositol, e seu uso generalizou-se.

Uma vez obtido o esporófito haplóide, este pode crescer normalmente até o estágio de floração, porém, em decorrência da ausência de cromossomos homólogos, a meiose é aberrante, e conseqüentemente não são formados gametas normais. Para obtenção de plantas férteis, é necessário induzir a diploidização, originando diplóides homocigotos. Tradicionalmente usa-se a colchicina para induzir a diploidização; e mais recentemente tem-se usado a tendência de endomitose observada no crescimento *in vitro* de calos, como uma técnica alternativa para a diploidização.

A importância da cultura de plantas haplóides para o desenvolvimento e ampliação do conhecimento acerca das plantas superiores é enorme. A indução de mutações em haplóides pode ser facilmente detectada, já que estes apresentam um complemento simples de genes, eliminando-se conseqüentemente a interferência dos alelos dominantes. Haplóides com mutações desejáveis podem então ser selecionados e seus cromossomos duplicados, obtendo-se diplóides férteis numa única geração. As plantas assim obtidas podem ser usadas como fonte de tecidos haplóides, os

quais podem ser mantidos *in vitro* indiferenciados, sendo ainda possível sua dissociação para produção de células haplóides livres. Estas por sua vez passam a constituir valiosa ferramenta nas pesquisas genéticas, fisiológicas, bioquímicas etc.

A utilização de haplóides acelera e facilita enormemente os programas de melhoramento vegetal, cujos métodos tradicionais envolvem o acompanhamento de sucessivas gerações, o que demanda, via de regra, um lapso de tempo bastante longo. Nos últimos anos, muito progresso tem-se conseguido com a indução de plantas haplóides em espécies de interesse econômico, e suas linhagens diploidizadas são freqüentemente usadas como fonte de homocigose nos programas de melhoramento vegetal e nos estudos básicos de genética.

A cultura de anteras é uma das poucas ferramentas biotecnológicas que já consolidaram sua importância e aplicabilidade, contudo muitas espécies botânicas mostram-se recalcitrantes, indicando que o mecanismo pelo qual gametófitos imaturos alteram sua via normal de desenvolvimento, para originar direta e assexuadamente um esporófito, persiste ainda com vários pontos obscuros.

Certamente, com a sofisticação de equipamentos e novas metodologias, muitas dúvidas serão esclarecidas num futuro breve. O interesse crescente na embriologia vegetal e na biologia reprodutiva das plantas vem consolidando estes campos de conhecimento como áreas de caráter essencialmente transdisciplinar e com um futuro bastante promissor.

Atualmente, uma crescente demanda se incorpora e exige avanços que podem ser encontrados na produção de embrióides, haplóides ou não. Tal demanda refere-se diretamente à conservação de germoplasma. É crescente a relação de espécies em eminente risco de empobrecimento genético ou mesmo extinção. Não raro métodos convencionais de propagação mostram-se insuficientes ou inadequados, notadamente nos casos de espécies arbóreas tropicais. Um crescente número de espécies arbóreas vem sofrendo comprometimento nos seus sistemas reprodutivos, muitas vezes de difícil reversão, sendo nestes casos imprescindível a interferência humana. Nestas situações críticas, a produção de embrióides pode representar uma alternativa, mostrando-se como instrumento indispensável na proteção e manutenção da biodiversidade global. A canelapreta (*Ocotea catharinensis*), só para citar um exemplo, é um destes casos típicos: exaustivamente explorada através do simples extrativismo, teve sua

população drasticamente reduzida. Outra espécie de freqüência bastante alta, encontra-se hoje numa condição crítica, com poucos indivíduos largamente distanciados na maioria das vezes, com evidente comprometimento no seu sistema de reprodução natural. Mesmo em populações naturais, problemas de conservação podem surgir, como é o caso da auto-incompatibilidade, registrada, por exemplo, em alguns gêneros de orquídeas. Charanastri & Kanemoto (1977) citam que 68% das espécies de *Oncidium* mostram auto-incompatibilidade. Clifford & Owens (1988) registram dados semelhantes para as orquídeas dos gêneros *Lemboglossum* e *Odontoglossum*. Neste contexto, a produção de embrióides pode auxiliar enormemente na manutenção e propagação das espécies, criando um certo alento numa das mais graves conseqüências do desenvolvimento desequilibrado da sociedade humana, que é a perda de um inestimável patrimônio, singularmente chamado biodiversidade.

#### Referências Bibliográficas

Batygina, T.B. 1987. New concept of asexual reproduction in flowering plants. XIV International Bot. Congr. Berlin.

\_\_\_\_\_. 1988. Some aspects of reproductive biology: asexual reproduction and heterogeneity of seeds. In: M. Cresti, P. Cori e E. Pacini. Sexual reproduction in higher plants. Springer-Verlag, Berlin, 502 pp.

Bhojwani, S.S. & Bhatnagar, S.P. 1981. The embryology of angiosperms. 3 ed., Vikas Publ. House, Delhi.

Charanastri, V. & Kanemoto, H. 1977. Self incompatibility in the *Oncidium* alliance. *Hawaii Orchid Journal* VI(3): 12 - 15.

Clifford, S. C. & Owens, S. J. 1988. Post-pollination phenomena and embryo development in the *Oncidiinae* (Orchidaceae). In: M. Cresti, P. Cori & E. Pacini. Sexual reproduction in higher plants. Springer-Verlag, Berlin, 502 pp.

Maheshwari, P. 1950. An introduction to the Embryology of Angiosperms. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York.

Nitsch, J.P. 1974. Haploid plants from pollen. *Z. Pflanzucht.* 67: 3 - 18.

Steward, F. C., Mapes, M. O., Mears, K. 1958. Growth and organized development of cultured cells. II organization in cultures grown from freely suspended cells. *Amer. J. Bot.* 45: 705 - 708