

Indução de massas celulares embriogênicas em *Physalis* sp. a partir de discos caulinares de plântulas estabelecidas *in vitro*.

Jonny Everson Scherwinski Pereira¹; Rodrigo da Silva Guedes², Gottfried Cristian Barbary Schmitz³; Bianor Jr. Alves¹

¹Embrapa Acre, C. Postal 321, 69908-970 Rio Branco-AC. E-mail: jonny@cpafac.embrapa.br; ²Mestrando em Produção Vegetal, UFAC, Rio Branco, AC; ³Embrapa Acre, Bolsista DTI/CNPq;

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência das auxinas 2,4-D e Picloran na indução de massas celulares embriogênicas em *Physalis* sp. ('camapu') a partir de discos caulinares de plantas cultivadas *in vitro*. O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Acre. Discos transversais de até 2 mm foram obtidos de plântulas de *Physalis* cultivadas *in vitro*, sendo inoculados em meio formado pelos sais e vitaminas de MS e solidificado com Phytigel (2,5g.L⁻¹). Utilizaram-se as auxinas 2,4-D e Picloran nas concentrações de 0, 5, 10, 15 e 20 µM. Após a inoculação, os frascos foram mantidos no escuro, em sala de crescimento com temperatura de 25±2°C. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições e cinco explantes por parcela. O ensaio foi avaliado aos 30 e 60 dias de cultivo, por meio da determinação da porcentagem de explantes apresentando a formação de massas celulares embriogênicas e calos friáveis. Verificou-se que a formação de massa celular embriogênica só foi verificada em explantes cultivados em meio com 2,4-D, nas concentrações de 15 e 20 µM. Nessas concentrações, a taxa de formação de massa celular embriogênica atingiu 100% dos explantes. Nos tratamentos onde se utilizou Picloran, não foi observada formação de massas embriogênicas, embora tenha se verificado intensa formação de calos friáveis.

PALAVRAS-CHAVES: *Physalis* sp, embriogênese, auxinas, Picloran.

ABSTRACT - Induction of embryogenic cellular masses in *Physalis* sp. from caulinar disks of plants cultivated *in vitro*

This work objectived to evaluate the efficiency of 2,4-D and Picloran auxines in the induction of embryogenic cellular masses in *Physalis* sp. from caulinar disks of plants cultivated *in vitro*. The experiment was carried out at the Laboratory of Plant Tissue Culture of Embrapa Acre. Disks of up to 2 mm were obtained of *Physalis* plantlets cultivated *in vitro*, being inoculated in salts and vitamins of MS medium, solidified with Phytigel (2,5g.L⁻¹). The auxines 2,4-D and Picloran were used in concentrations of 0, 5,

10, 15 and 20 μM . After the inoculation, the flasks were maintained on darkness, in a growth room with temperature of $25\pm 2^\circ\text{C}$. The experiment was evaluated after 30 and 60 days, through the determination of the percentage explantes presenting the formation of embryogenic cellular masses and friable callus. It was verified that the embryogenic cellular masses was only verified in explantes cultivated in medium with 2,4-D, in the concentrations of 15 and 20 μM . In those concentrations, the embryogenic cellular masses rate reached 100% of the explants. In the treatments where Picloran was used, embryogenic cellular masses formation was not observed, although it has verified intense formation of friable callus.

KEYWORDS: *Physalis* sp, embriogenese, auxines.

INTRODUÇÃO

A família Solanacea, a qual pertence o gênero *Physalis*, reconhecida pela presença de metabólitos poli-oxigenados e vitaesteróides (Tomassini et al. 2000), inclui uma ampla variedade de plantas que são econômica e farmacologicamente importantes (Purushothanan et al., 1988).

Physalis angulata L. é largamente empregada na medicina popular de vários países, especialmente os da América do Sul. O principal grupo de esteróides encontrados no gênero *Physalis* são as fisalinas. Tomassini et al. (2000), reportam alguns dados sobre aplicações terapêuticas e atividades farmacológicas de espécies de *Physalis* como anti-parasítica, anti-viral, e anti-neoplásica.

Neste contexto, devido à importância da espécie, estudos de multiplicação e indução de massivos celulares visando futuros trabalhos com os metabólitos secundários de *P. angulata* se fazem necessários, especialmente por tratar-se de uma espécie comumente encontrada em regiões da Amazônia Ocidental brasileira. Este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência das auxinas 2,4-D e Picloran na indução de massas celulares embriogênicas a partir de discos caulinares de plantas de *Physalis* sp. cultivadas *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Acre, Rio Branco, AC, entre os meses de novembro de 2005 e janeiro de 2006. Como material vegetal utilizou-se discos caulinares de camapu (*Physalis* sp. L.) medindo 2 mm de altura, dando-se preferência para as partes mais apicais das plantas, visando

melhor resposta na indução da embriogênese. Os discos foram retirados de plântulas cultivadas *in vitro*, com tamanho médio variando entre 3 e 6 cm de altura.

O meio de cultura básico utilizado nos experimentos continha os sais e vitaminas de MS, acrescido de inositol (100 mg.L^{-1}), sacarose (30 g.L^{-1}) e Phytigel ($2,5 \text{ g.L}^{-1}$). Para a indução das massas embriogênicas, testaram-se as auxinas 2,4-D e Picloran nas concentrações de 0, 5, 10, 15 e $20 \mu\text{M}$. O pH do meio de cultura foi ajustado para $5,8 \pm 0,1$, antes da adição do solidificante ágar. Foram utilizados frascos de vidro de 100mL de capacidade, com 30 mL de meio. Os ensaios foram mantidos no escuro, em sala de crescimento com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento, sendo cada parcela formada por um frasco com cinco explantes. O ensaio foi avaliado aos 30 e 60 dias de cultivo, por meio de avaliações quanto à porcentagem de explantes apresentando a formação de massas celulares embriogênicas e formação de calos friáveis.

Os dados foram submetidos à análise da variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste Tukey, utilizando o programa Sanest.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se o desenvolvimento celular e a formação de calos em todos os tratamentos. Porém, a formação de massa celular embriogênica só foi verificada em explantes cultivados em meio com 2,4-D, a partir das concentrações de 15 e $20 \mu\text{M}$, ocorrendo também regeneração de alguns embriões. Já nos tratamentos onde se utilizou Picloran, não foi observada formação de massas embriogênicas. Para este regulador, observou-se a formação de calos friáveis (Figura 1). Verificou-se ainda que em parte dos tratamentos, os calos formados possuíam condição mista, com parte organogênica e parte embriogênica, assim como descrito por Bregitzer et al. (1995). Além disso, ocorreu a formação de massas celulares embriogênicas em 100% dos explantes cultivados em 2,4-D nas concentrações de 15 e $20 \mu\text{M}$. No entanto, não se descarta a possibilidade dessas concentrações ainda serem baixas para a obtenção dos melhores resultados, visto que não foi notado oxidação ou morte dos explantes.

Trabalhos futuros devem ser realizados com objetivo de maximizar a embriogênese somática e induzir a regeneração desses embriões, uma vez que este tipo de morfogênese é altamente recomendável quando se deseja a obtenção de um elevado número de plantas em reduzido espaço de tempo (Bregitzer et al., 1995).

LITERETURA CITADA

BREGITZER, P.; MILACH, S.C.K.; RINES, H.W.; SOMERS, D.A. Somatic embryogenesis in oat (*Avena sativa* L.). In: BAJAJ, Y.P.S. (Ed.). *Biotechnology in Agriculture and Forestry. Somatic Embryogenesis and Synthetic Seed II*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1995. v.31, p.53-62.

PIETRO R.C.L.R.; KASHIMA S.; SATO D.N.; JANUÁRIO A.H.; FRANÇA S.C.; 2000. *In vitro* antimycobacterial activities of *Physalis angulata* L. *Phytomedicine* 7: 335-338.

PURUSHOTHANAN K.K., et al., J. Scient. Ind.Res., vol. 47,326-34, 1988.

TOMASS'NI T.C.B.; BARBI N.S.; RIBEIRO I.M.; AVIER D.C.D. 2000. Gênero *Physalis* – Uma revisão sobre vitaesteróides. *Química Nova* 23: 47-57.

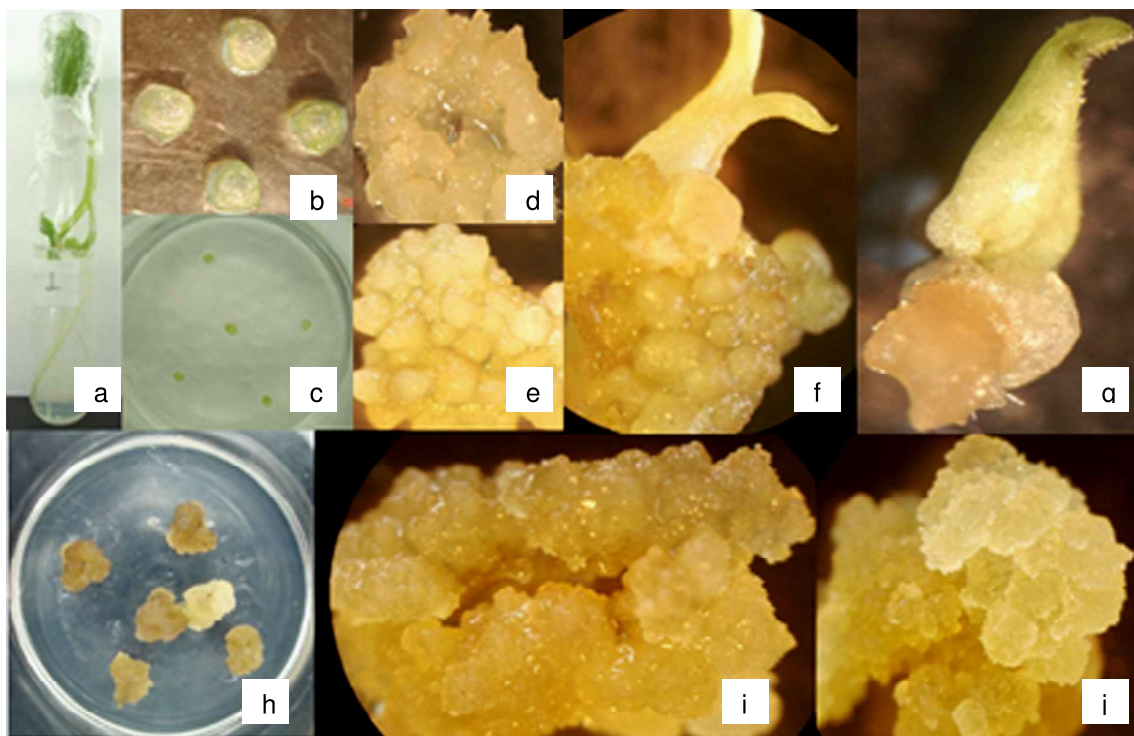


Figura 1: Aspecto geral dos calos obtidos em razão das diferentes auxinas testadas: plântulas utilizadas no experimento (a); discos caulinares de camapu vistos na lupa (b); discos de camapu em meio de cultura (c); calo regenerativo aos 30 dias em 2,4-D (d); massa de células embriogênicas formadas aos 60 dias em 2,4-D (e); embrião somático regenerado em meio com 2,4-D aos 60 dias (f); embrião somático isolado sendo regenerado regeneração em meio com 2,4-D (g); formação de calos em discos de camapu cultivados com Picloran (h); calos friáveis primários e secundários cultivados com Picloran vistos em lupa 10x (i, j).