

Ocorrência de embriogênese somática direta em explantes foliares de sacaca induzida por citocininas.

Tatiane Loureiro da Silva¹; Jonny Everson Scherwinski Pereira².

¹UFAC, Bolsista PIBIC/CNPq/Embrapa Acre; ²Embrapa Acre, C.P. 321, 69908-970, Rio Branco, AC. E-mail: jonny@cpafac.embrapa.br

RESUMO

A sacaca é uma planta medicinal da Amazônia que se multiplica precariamente por rebentos de raízes, sendo que a reprodução por via sexual é problemática em razão dos problemas de floração e baixo índice de sementes férteis produzidas. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes citocininas na morfogênese direta de sacaca a partir de explantes foliares. Explantes foliares de microestacas de sacaca estabelecidas *in vitro*, com tamanho aproximado de 0,5 cm², foram inoculados em meio de MS com a superfície abaxial em contato com o meio. Os tratamentos consistiram da adição ao meio das citocininas BAP, 2iP e TDZ, nas concentrações de 0; 2,5 e 5 µM. O cultivo foi mantido no escuro, sob temperatura de 25±2°C, e a avaliação foi feita aos 40 dias de cultivo. O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado, em fatorial 3x3 totalizando nove tratamentos. Apesar da baixa frequência de resposta (10%), BAP e 2iP foram as únicas citocininas que proporcionaram alguma respostas nos explantes, sendo que os melhores resultados foram observados nas concentrações de 2,5 µM de BAP e 5 µM de 2iP. Verificou-se a formação de embriões somáticos globulares nas extremidades da nervura central dos explantes, sugerindo que nesta região das folhas as respostas podem ser mais pronunciadas. Conclui-se que folhas devem ser consideradas como importantes fontes de explantes para trabalhos *in vitro* com sacaca e que BAP e 2iP são citocininas que induzem respostas morfogênicas neste tipo de explante, embora seja necessário a realização de estudos mais aprofundados para melhor entender e caracterizar os fatores envolvidos em cada uma das etapas do processo de embriogênese em sacaca.

Palavras-chave: *Croton cajucara*, embriogênese, BAP, 2iP.

ABSTRACT- Occurrence of direct somatic embryogenesis on foliar explants of `Sacaca` induced by cytokinins.

`Sacaca` is a medicinal plant of Amazon with great problems of natural propagation due the lower index of fertile seeds produced. The objective of this work was to evaluate the effect of different cytokinins in the direct morphogenesis of `Sacaca` from foliar explants. Foliar explants of `Sacaca` obtained of microshoots established *in vitro*, with 0.5cm², were inoculated on MS medium with the abaxial surface in contact with the medium. The

treatments consisted of addition of BAP, 2iP and TDZ cytokinins in the media at concentrations of 0, 2.5 and 5 μM . The experiment was kept in darkness, under $25\pm 2^\circ\text{C}$, and the evaluation was made after 40 days. A completely randomized design was used in a factorial 3×3 , totaling nine treatments. In spite of the low frequency (10% approximately), BAP and 2iP were the only cytokinins that provided some answer on the explants. The best results were observed in the concentrations of 2.5 μM of BAP and 5 μM of 2iP. The formation of globular somatic embryos was verified in the extremities of the explants, suggesting that in this area of the leaves the answers can be more pronounced. It is conclude that leaves should be considered as a important source of explant for works with `Sacaca` *in vitro* and that BAP and 2iP are cytokinins that induce important morphogenetic answers on this type of explant, although it is necessary more studies for best understanding and to characterize the factors involved in each one of the stages of the `Sacaca` embryogenesis process.

Key-words: *Croton cajucara*, embryogenesis, BAP, 2iP.

INTRODUÇÃO

A sacaca (*Croton cajucara*) é uma Euphorbiacea nativa da Amazônia. Embora ainda não domesticada esta espécie já apresenta um grande potencial como planta medicinal e aromática da região, se destacando principalmente como produtora de linalol, um importante álcool terpeno, usado como fixador de perfumes pelas indústrias de cosméticos e perfumarias, o que a constitui uma espécie potencial substituinte do “pau-rosa” na extração de linalol (Kalil filho et al., 2000). A sacaca multiplica-se precariamente por rebentos de raízes, sendo que a reprodução por via sexual é problemática em razão da limitada floração e do baixo índice de sementes férteis produzidas (Kalil Filho et al., 1998; Conceição et al., 2002). Por isso, devido ao crescente interesse pela cultura, o desenvolvimento de protocolos para a propagação massiva de plantas de sacaca por organogênese ou embriogênese somática é de fundamental importância.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes citocininas na morfogênese direta de sacaca a partir de explantes foliares.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Acre, Rio Branco, AC. Microestacas estabelecidas *in vitro* foram levadas para câmara de fluxo laminar, onde as folhas foram excisadas e cortadas em um tamanho aproximado de 0,5 cm^2 . Os explantes foliares foram então inoculados com a superfície

abaxial voltada para o meio de cultura. O meio de cultura foi formado pelos sais e vitaminas de MS, suplementado com 30,0 g.L⁻¹ de sacarose e 100 mg.L⁻¹ de inositol. Os tratamentos consistiram da adição ao meio das citocininas BAP, 2iP e TDZ, nas concentrações de 0; 2,5 e 5 µM. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8±0,1 antes da adição do solidificante ágar (6 g.L⁻¹), sendo posteriormente autoclavado à 121°C por 15 minutos e 1,3 atm de pressão. O cultivo foi mantido no escuro sob temperatura de 25±2°C. A avaliação foi feita 40 dias após a inoculação, observando-se a presença de embriões globular e a oxidação dos explantes.

O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado, em fatorial 3x3 totalizando nove tratamentos. Cada tratamento foi constituído de quatro repetições com cinco explantes por parcela. Os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apesar da baixa frequência de resposta (aproximadamente 10% dos explantes), BAP e 2iP foram as únicas citocininas que proporcionaram alguma respostas nos explantes foliares de sacaca cultivados, sendo que os melhores resultados foram observados nas concentrações de 2,5 µM de BAP e 5 µM de 2iP. De modo geral, a formação de embriões globulares ocorreu nas extremidades da nervura central dos explantes, sugerindo que nesta região das folhas de sacaca as respostas são mais pronunciadas (Figura 1). Morales et al. (1999), estudando a calogênese em macieira citam que o BAP possibilitou a diferenciação e desenvolvimento dos explantes em curto espaço de tempo, possivelmente devido ao alto grau de atividade biológica que induz às células vegetais. Já Teixeira et al. (2004), trabalhando com embriogênese somática em cafeeiro, verificou respostas de até 100% dos explantes em meio de cultura suplementado com 2iP, especialmente nas concentrações de 2,5 e 5,0 µM, indicando que esta citocinina proporciona bons resultados organogênicos para esta cultura.

Apesar de bastante citado na literatura devido a seus efeitos benéficos na indução da organogênese para diversas espécies de plantas, neste trabalho e nas concentrações testadas, o TDZ não promoveu nenhuma resposta organogênica ou embriogênica nos explantes foliares testados. Além do mais, foi em meio de cultura suplementado com TDZ onde se observou os maiores índices de oxidação dos explantes. Rodrigues (2000) trabalhando com discos foliares de *T. grandiflorum* em meio suplementado com 4,52 mM de TDZ, observou altos índices de oxidação e baixa respostas dos explantes a este regulador.

Pode-se concluir que folhas devem ser consideradas como importante fonte de explante para trabalhos *in vitro* com sacaca e que BAP e 2iP são citocininas que induzem respostas morfogênicas em sacaca, embora seja necessário que outros estudos sejam conduzidos para melhor entender e caracterizar os fatores envolvidos em cada uma das etapas do processo.



Figura 1: Embriões somáticos globulares formados diretamente em explantes foliares de sacaca em meios contendo 2 iP e BAP, respectivamente.

LITERATURA CITADA

- CONCEIÇÃO, C.C.C. da; MOTA, M.G. da C.; NASCIMENTO, M.E.; VIEIRA, I.M.S. Morfologia das flores, frutos, sementes e plântula de sacaca – *Croton cajucara* Benth. (Euphorbiaceae). *Acta Horticulturae*, v.569, p.167-171, 2002.
- KALIL FILHO, A.N.; LUZ, A.I.R.; SÁ SOBRINHO, A.F. de; WOLTER, E.L.de A.; PEREIRA JUNIOR, O.L. *Conservação de germoplasma de sacaca* (*Croton cajucara* Benth.), *uma nova fonte de linalol para a Amazônia Ocidental*. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 3p. (Pesquisa em Andamento, 39), 1998.
- KALIL FILHO, A.N.; KALIL, G.P.; LUZ, A.I.R. *Conservação de germoplasma de plantas aromáticas e medicinais da Amazônia brasileira para uso humano*. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 4p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Comunicado técnico, 50), 2000.
- MORALES, C. F. G.; LOMBARDI, S. R. B.; SOARES, P. F; FORTES, G. R. L. Efeito do BAP e TDZ na calogênese e organogênese em internódios de macieira cv. Gala RW1. *Revista Brasileira de Agrociência*, v. 5 n. 3, p. 174-177, 1999.
- RODRIGUES, E.F. *Desenvolvimento do eixo embrionário in vitro e calogênese de cupuaçu* (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum.) e *estabelecimento do ápice caulinar de bacuri* (*Platonia insignis* Martius). 2000, 70f. Tese (Doutorado em Agronomia)-Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.
- VENTURIERI, G.A.; VENTURIERI, G.C. Calogênese do híbrido *theobroma grandiflorum* x *T. Obovatum* (Sterculiaceae). *Revista Acta Amazônica*, Manaus, v 34, n 4, 2004.