

XVIII

CIC

XI ENPOS
I MOSTRA CIENTÍFICA



Evoluir sem extinguir:
por uma ciência do devir



MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze

RODRIGUES, Isabel Corrêa da Silva¹, RIBEIRO, Márcia Vaz¹, PEROTTI, Janieli Cristina¹; PETERS, José Antonio¹ e BRAGA, Eugenia Jacira Bolacel¹

¹Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas/UFPeI, Campus Universitário – Cx. Postal 354 – CEP 96010-900, Capão do Leão, RS, Brasil. (bebbelzzinha@hotmail.com)

1. INTRODUÇÃO

A importância do emprego das plantas no tratamento de diversas enfermidades é expressiva, e isso pode ser constatado pelo aumento do consumo de fitoterápicos pela população no contexto mundial (CARDOSO JUNIOR, 1996). Porém, existe uma preocupação com a conservação de plantas medicinais, pois a coleta indiscriminada em ambiente natural vem crescendo em ritmo acelerado (VIEIRA, 2002).

O gênero *Alternanthera*, pertencente à família Amaranthaceae, tem sido reconhecido pelas suas propriedades farmacológicas, pois foram identificados compostos biologicamente ativos, entre eles os triterpenóides, compostos fenólicos e pigmentos da classe betalaínas (betacianinas e betaxantinas) (SALVADOR; DIAS, 2004). O interesse por esses pigmentos cresceu desde que sua atividade anti-radical foi caracterizada, e passou a ser amplamente utilizada como aditivo para produtos alimentícios, fármacos e cosméticos devido as suas propriedades colorantes naturais e ausência de toxicidade (DÖRNENBURG; KNORR, 1996).

Alternanthera brasiliana, conhecida como penicilina ou terramicina, possui atividade analgésica e atividade antiproliferativa de linfócitos (BROCHADO et al., 2003), sendo encontrada no Brasil, nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (PEREIRA et al., 2007).

A propagação *in vitro* tem sido muito útil na produção de plantas homogêneas, com alta qualidade sanitária, isentas de patógenos, além de ser uma ferramenta importante para a manutenção e o intercâmbio de germoplasma (SILVA et al., 2007).

O objetivo desse estudo foi, inicialmente, estabelecer uma forma eficiente de proliferação de brotações adventícias de plantas de *Alternanthera brasiliana* cultivadas *in vitro*, para posteriormente permitir a investigação de outras respostas como a tolerância ao estresse salino.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas do Departamento de Botânica, do Instituto de Biologia, da UFPel. Segmentos nodais de aproximadamente 1,0 cm de plantas de *A. brasiliiana*, previamente estabelecidas *in vitro*, foram inoculados nos diferentes meios de cultura: MS (MURASCHIGE;SKOOG, 1962) Woody Plant Medium – WPM (LLOYD; MCCOWN, 1980) e B5 (GAMBORG et al., 1968), onde permaneceram por 45 dias para testar qual deles seria mais eficiente para o desenvolvimento da planta inteira. Em um segundo experimento, a fim de otimizar a produção de novas brotações foram adicionadas ao meio MS seis concentrações (0; 1; 2,5; 5; 10 e 15 μM) da citocinina benzilaminopurina (BAP). Para todos meios de cultura foram adicionados 100 mg L^{-1} de mio-inositol, 30 g L^{-1} de sacarose, 7 g L^{-1} de ágar, sendo o pH ajustado para 5,8 antes da adição do ágar. Os meios foram distribuídos em frascos e autoclavados a 1,5 atm e temperatura de 121°C por 20 minutos. As condições de cultivo em sala de crescimento foram de fotoperíodo de 16 horas, densidade de fluxo de fótons de 48 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e temperatura de 25±2°C. Para ambos os experimentos o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo cada tratamento composto de cinco repetições, representadas por um frasco contendo quatro explantes. Foram avaliados números de folhas, brotos, raízes, altura e comprimento radicular. Os resultados foram submetidos à análise de variância, teste de médias e análise de regressão polinomial, com auxílio do software WINSTAT (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2002).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as características números de folhas, brotos, raízes, altura e comprimento radicular não houve diferença significativa em função dos meios testados. As maiores médias para número de folhas, altura e de brotos foram obtidas nas plantas cultivadas em meio B5 e número e comprimento médio de raízes nas plantas mantidas em meio MS, conforme tabela 1. Costa et al. (2007), comparando esses mesmos meios na multiplicação de alecrim-pimenta, observaram que não houve diferença estatística para estas mesmas variáveis.

Tabela 1. Média das variáveis número de folhas, brotos e raízes, altura e comprimento radicular de *A. brasiliiana*, cultivadas em três meios de cultura: MS, WPM e B5, por 45 dias.

MEIOS	VARIÁVEIS				
	Nº FOLHAS	ALTURA	Nº BROTONS	Nº RAIZ	COMP. RAIZ
B5	9,70 a	4,34 a	1,66 a	5,04 a	3,64 a
MS	9,25 a	3,14 a	1,64 a	5,61 a	4,06 a
WPM	9,21 a	3,46 a	1,27 a	5,49 a	3,02 a

* Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste de Tukey.

De forma geral, os meios de cultura MS, WPM e B5 proporcionaram resultados estatisticamente iguais, porém optou-se pela utilização do MS por ser o mais empregado na cultura de tecidos. Conforme George (1993) o meio de Muraschige e Skoog (1962) é o mais utilizado na cultura de Angiospermae e possui altas concentrações de macro e micronutrientes quando comparada a outras formulações salinas.

A utilização da citocinina BAP não proporcionou um aumento significativo no número de brotações, originadas por explante, sendo as maiores médias obtidas nas concentrações de 5 e 10 μM de BAP. Entretanto, para as demais variáveis, a ausência de BAP incrementou significativamente o número de folhas, raiz, altura e comprimento radicular (Tabela 2). Juliani et al. (1999), em estudos com *Lippia junelliana* (Mold.) Tronc., também obtiveram maior média para o altura da parte aérea em MS na ausência de fitorreguladores.

Foi observado que a adição de BAP ao meio de cultura provocou imediata inibição do crescimento da parte radicular e o aumento da sua concentração teve efeito negativo sobre as variáveis avaliadas. Resultados semelhantes foram obtidos por Grigoriadou; Maloupa (2008) na multiplicação de *Crithimum maritimum* L., onde este regulador em concentrações crescentes apresentou redução da altura, do número de folhas e de raízes.

Tabela 2. Média das variáveis número de folhas, brotos e raízes, altura e comprimento radicular de *A. brasiliiana*, cultivadas em meio MS com seis concentrações de BAP, por 45 dias.

MEIOS	VARIÁVEIS				
	Nº FOLHAS	ALTURA	Nº BROTOS	Nº RAIZ	COMP. RAIZ
MS	10,81 a	3,38 a	1,84 a	3,70 a	4,12 a
MS + 1 μM BAP	8,10 b	1,40 b	1,83 a	0,00 b	0,00 b
MS + 2,5 μM BAP	8,14 b	1,24 bc	1,92 a	0,00 b	0,00 b
MS + 5 μM BAP	7,83 b	1,12 bc	2,00 a	0,00 b	0,00 b
MS + 10 μM BAP	7,33 b	0,68 c	2,00 a	0,00 b	0,00 b
MS + 15 μM BAP	6,59 b	0,56 c	1,96 a	0,00 b	0,00 b

* Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste de Tukey.

Conforme Jesus et al. (2002) o BAP estimula maior produção de parte aérea, mas seu excesso pode ser tóxico e se caracteriza pela falta de alongamento da parte aérea e produção de calos, o que foi evidenciado nesse trabalho (Figura 1).

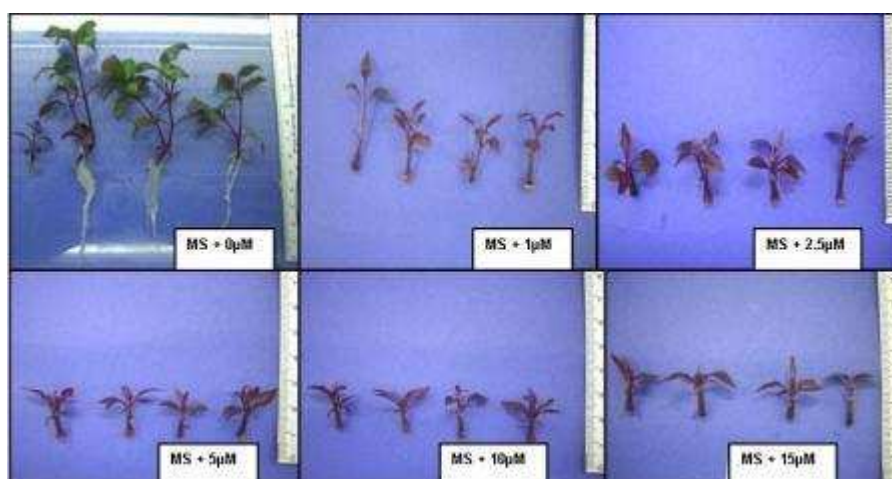


Figura 1 - Plantas de *A. brasiliiana* cultivadas *in vitro* em concentrações crescentes de BAP (0; 1; 2,5; 5; 10 e 15 μM) por 45 dias.

4. CONCLUSÕES

A partir dos dados analisados, conclui-se que o melhor meio de cultura para a multiplicação de *A. brasiliiana in vitro* é o meio MS sem adição de regulador de crescimento BAP.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARDOSO JÚNIOR, E. L. Homem e plantas medicinais: passado, presente e futuro. In: SEMINÁRIO MINEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS, 2., 1996, Lavras, **Anais**, Lavras: UFLA, 1996. p.1-4.
- COSTA, A. S. da; ARRIGONI-BLANK, M. F.; BLANK A. F.; MENDONÇA A. B.; AMANCIO V. F.; LEDO A. S. Estabelecimento de alecrim-pimenta *in vitro*. **Horticultura Brasileira**, v.25, p.68-72, 2007.
- DORNENBURG, H.; KNORR, D. Generation of colors and flavors in plant cell and tissue cultures. **Critical Reviews in Plant Science**, v.15, p.141-168, 1996.
- GAMBORG, O. L.; MILLER, R. A.; OJIMA, K. et al. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. **Experimental Cell Research**, v.50, p.151–158, 1968.
- GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. Part. 1 The technology. 2.ed. Edington: Exegetis, 1993. 574p.
- GRIGORIADOU, K.; MALOUPA, E. Micropropagation and salt tolerance of in vitro grown *Crithmum maritimum* L., **Plant Cell Tiss Organ Cult**, v.94, p.209-217, 2008.
- GOTTLIEB O. R.; MORS, W. B, Potencial utilization of brazilian wood extractives. **Journal Agricultural and Food Chemical**, v.28, p.196-215, 1980.
- JESUS, A. M. S.; CARVALHO, S. P.; PASQUAL, M.; CARVALHO, M.; DUTRA, L. F. Micropropagação do cafeeiro com concentrações de BAP em meio de pré-cultivo e de BAP e TDZ em meio de subcultivo. **Revista CERES**, v.4, p.253-263, 2002.
- JULIANI, H. R. (JR); KOROCH, A. R.; JULIANI, H. R.; TRIPPI, V. S. Micropropagation of *Lippia junelliana* (Mold.) Tronc. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.59, p.175–179, 1999.
- LLOYD, G.; MCCOWN B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Proc Int Plant Prop Soc**, v.30, p.421–427, 1980.
- MACHADO, A., CONCEIÇÃO, A. R. **Programa estatístico WinStat – Sistema de Análise Estatístico para Windows**, versão 2.0. Pelotas, RS, 2002.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- PEREIRA, D.F., ZANON, R.B., MAGOGA, B, ATHAYDE, M.L. Conteúdo de polifenóis totais em folhas de *Alternanthera brasiliiana*. In: I CONGRESSO DE FARMÁCIA DE MARINGÁ, 11, 2006, Maringá. **Arquivos do Mudi**, 2007, p.160.
- SALVADOR, M.J., DIAS, D.A. Flavone C-glycosides from *Alternanthera maritima* (Mart.) St. Hil. (Amaranthaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, p. 107–110, 2004.
- SILVA, A.B.; PASQUAL, M.; TEIXEIRA, J.B.; ARAÚJO, A.G. Métodos de micropropagação de abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.9, p.1257-1260, 2007.
- SIQUEIRA, J.C. de. Amaranthaceae. In: Wanderley, M.G.L; Shepherd, G.J; Giulietti, A.M.(Coord.), **Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: Ed. Hucitec Fapesp, 2002. p.11-30.

VIEIRA, R.F. Conservação de Recursos Genéticos de Plantas Medicinais e Aromáticas Brasileiras: Um Desafio Para O Futuro. In: I Latin-American Symposium on the Production of Medicinal, Aromatic and Condiments Plants, 2002, São Paulo. **ISHS Acta Horticulturae 569**, São Paulo, 2002.