

EFEITO DE COMPOSTOS FENÓLICOS, CARVÃO ATIVADO E DO MEIO FÍSICO NO DESENVOLVIMENTO DE SEGMENTO NODAL DE *Cordia verbenacea* L.

EFFECTS OF PHENOLIC COMPOUNDS, ACTIVATED CHARCOAL AND PHYSICAL MEDIA ON NODAL SEGMENT DEVELOPMENT OF *Cordia verbenacea* L.

Osmar Alves Lameira¹ José Eduardo Brasil Pereira Pinto² Maria de Fátima Arrigoni-Blank³
Maria das Graças Cardoso⁴

RESUMO

O trabalho teve como objetivo avaliar a influência de compostos fenólicos, do carvão ativado e do meio físico de cultura na multiplicação *in vitro* de *Cordia verbenacea*. Segmento caulinar nodal com 3 a 4cm de comprimento provenientes de mudas com três anos de idade cultivadas em casa de vegetação foram excisados e inoculados com 5mm de comprimento em meio sólido a 0,8% ou líquido de Murashige & Skoog, suplementados isoladamente com 150mg l⁻¹ de floroglucinol, 10mg l⁻¹ de catecol, 20mg l⁻¹ de ácido clorogênico e 0,3% de carvão ativado. O meio líquido de cultivo contendo ácido clorogênico foi o mais eficiente, produzindo em média 3 propágulos por explante, com 13mm. O tratamento menos eficiente no meio líquido foi o floroglucinol e no meio sólido o carvão ativado. No meio de cultura MS sem regulador de crescimento 70% dos propágulos provenientes do meio contendo ácido clorogênico enraizaram, nos demais tratamentos não houve enraizamento.

Palavras-chave: compostos fenólicos, carvão ativado, micropropagação.

SUMMARY

This paper describes the results of an investigation on effects of phenolic compounds, activated charcoal and culture physical media on *in vitro* propagation of *Cordia verbenacea*. Nodal segments with 3 to 4cm length from plants with three years old cultured in greenhouse, were excised and inoculated with 5mm length in a solid medium or liquid Murashige and Skoog basal

medium supplemented with 150mg l⁻¹ phloroglucinol, 10mg l⁻¹ catechol, 20mg l⁻¹ chlorogenic acid and 0.3% activated charcoal. The liquid medium supplemented with chlorogenic acid induced in average three propagules per segment with 13mm length. Treatments containing phloroglucinol in liquid medium and activated charcoal in solid medium were less effective. Propagules were only observed from culture medium containing chlorogenic acid rooted 70% in MS medium without growth regulators.

Key words: phenolic compounds, activated charcoal, micropropagation.

INTRODUÇÃO

Cordia verbenacea é uma espécie perene e arbustiva sendo encontrada principalmente nas regiões litorâneas do Brasil. Popularmente conhecida como erva-baleeira é uma planta com propriedades medicinais usada como antiinflamatório e analgésico (SILVA JUNIOR *et al.*, 1995). Propagada usualmente por sementes pode sofrer alterações no teor do princípio ativo dentro da espécie em função da variação genética existente, além de outros fatores. Devido ao princípio ativo da planta ser extraído das folhas a espécie corre o risco de extinção, face a exploração predatória (GUIA RURAL, 1991).

¹Engenheiro Agrônomo, Mestre, EMBRAPA/CPATU, Belém, PA, Doutorando na Universidade Federal de Lavras (UFLA).

²Professor Titular, Departamento de Agricultura, UFLA, Caixa Postal 37, 37200-000 Lavras, MG. Autor para correspondência.

³Biólogo, Mestre, Departamento de Agricultura, UFLA, Bolsista RHA/CNPq.

⁴Professora, Doutora, Departamento de Química, UFLA.

Os compostos fenólicos e seus glicosídeos são comuns nas plantas, possuindo um papel metabólico variável. Existem vários trabalhos relatando o efeito dos compostos fenólicos sobre o crescimento de plantas em condições *in vitro*. JONES (1976) relata que utilizando 162mg l⁻¹ de floroglucinol aumentou a taxa de crescimento e a produção de brotos em macieira. A promoção do enraizamento foi obtida em *Prunus cerasifera* com 20mg l⁻¹ de ácido clorogênico (HAMMERSCHLAG, 1982a) e em *Hedera helix* com 5,5mg l⁻¹ de catecol (HACKETT, 1970).

O carvão ativado embora não seja um regulador de crescimento tem sido utilizado com mais frequência em doses que variam de 0,1 a 0,5% para melhorar ou regular o crescimento de plantas *in vitro* (GEORGE, 1996). LAMEIRA *et al.* (1994) utilizaram 0,1% de carvão ativado para estimular o enraizamento em *Cephaelis ipecacuanha*.

Limitada atenção tem sido direcionada para maximizar a proliferação de brotos a partir do estado físico do meio de cultura. O estado físico do meio são notavelmente conhecidos por influenciar o crescimento de plantas micropropagadas (HAMMERSCHLAG, 1982b; GHASGHAIE *et al.*, 1991). SNIR & EREZ (1980) observaram que o crescimento de porta enxertos de macieira foi influenciado pelo estado físico do meio de cultura.

Através da cultura de tecidos, a multiplicação vegetativa de espécies de interesse econômico como a erva-baleeira, constitui-se numa alternativa eficaz. Não existem relatos de trabalhos na literatura sobre a propagação *in vitro* de erva-baleeira. O trabalho teve como objetivo avaliar a influência de compostos fenólicos, do carvão ativado e do meio físico de cultura na multiplicação *in vitro* da erva-baleeira.

MATERIAIS E MÉTODOS

Mudas de erva-baleeira com três anos de idade cultivadas em casa de vegetação foram usadas como fonte de explantes. Segmento caulinar nodal com 3 a 4cm de comprimento retirados de ramos laterais jovens foram lavados em água corrente, em seguida desinfestados em solução contendo hipoclorito de sódio comercial a 30% e duas gotas de detergente comercial por 100ml de solução durante 10 minutos, sendo 5 minutos em agitação. Posteriormente, em câmara de fluxo laminar foram lavados quatro vezes em água destilada autoclavada. Em seguida excisados e inoculados com 5mm de comprimento em meio de cultivo sólido a 0,8% ou líquido de Murashige & Skoog (MURASHIGE & SKOOG, 1962), suplementados isoladamente com 150mg l⁻¹ de floroglucinol (T₁),

10mg l⁻¹ de catecol (T₂), 20mg l⁻¹ de ácido clorogênico (T₃) e 0,3% de carvão ativado (T₄).

Os explantes foram incubados a 26±1oC em um fotoperíodo de 16 horas luz branca fria fluorescente sob 25µmol m⁻² s⁻¹ de irradiância. O pH dos meios de cultura foram ajustados para 5,7±0,1 antes de serem autoclavados.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com oito repetições com dois explantes por repetição. As médias foram comparadas pelo teste de Duncan em nível de 1% de probabilidade de erro. A avaliação do número e tamanho dos propágulos foi realizada com 30 dias após a incubação inicial e as raízes com 32 dias após a transferência para o meio MS sem regulador de crescimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O meio líquido de cultivo foi mais eficiente que o meio sólido nos dois parâmetros avaliados em todos os tratamentos, com exceção do tratamento contendo floroglucinol (T₁) onde não houve diferença significativa entre o estado físico do meio de cultura (Figuras 1 e 2). Entre os tratamentos, o meio de cultura contendo ácido clorogênico foi mais eficiente para número de propágulos nos dois estados físicos, e para o parâmetro comprimento de propágulos a eficiência somente foi demonstrada dentro do meio líquido, tendo sido obtido em média 3 propágulos por explante com 13mm. No meio sólido não houve diferença entre os tratamentos.

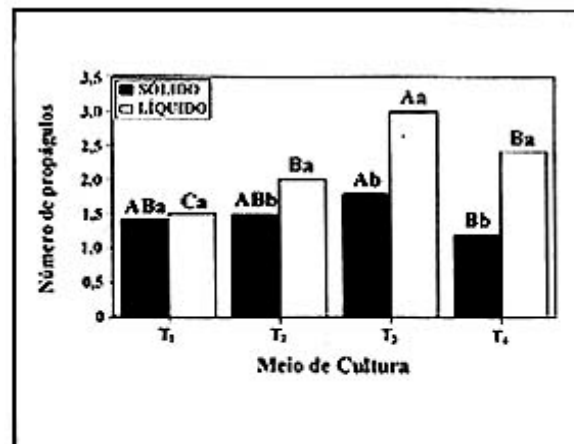


Figura 1 - Efeito do meio de cultura MS suplementado com floroglucinol (T₁), catecol (T₂), ácido clorogênico (T₃) e carvão ativado (T₄) sobre o número de propágulos de erva-baleeira. Médias seguidas de mesma letra maiúscula dentro de estado físico e de letras minúsculas dentro de cada tratamento não diferem pelo teste de Duncan a 1% de erro.

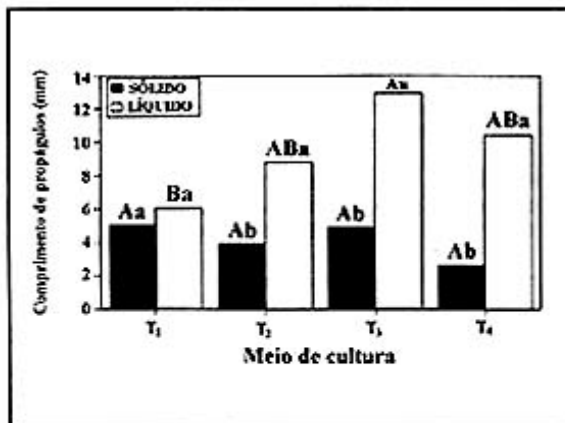


Figura 2 - Efeito do meio de cultura MS suplementado com floroglucinol (T₁), catecol (T₂), ácido clorogênico (T₃) e carvão ativado (T₄) sobre o comprimento de propágulos de erva-baleeira. Médias seguidas de mesma letra maiúscula dentro de estado físico e de letras minúsculas dentro de cada tratamento não diferem pelo teste de Duncan a 1% de erro.

A maior eficiência do meio líquido de cultivo possivelmente foi devido a um aumento na absorção de nutrientes do meio através de toda a superfície do explante. Enquanto que no meio sólido, o agar pode conter componentes tóxicos para alguns tecidos de plantas que inibirão o desenvolvimento dos explantes. Essa eficiência do meio líquido foi também obtida por HAMMERSCHLAG (1982b) quando investigou o efeito do estado físico do meio de cultura sobre o crescimento de brotos de pessegueiro *in vitro*.

Uma outra vantagem do uso do meio líquido é que os brotos com crescimento vagaroso, devido a presença de fungos ou bactérias, podem ser mais rapidamente identificados. A obscuridade do meio identifica os brotos contaminados.

O efeito morfo genético do ácido clorogênico foi devido ao aumento nos níveis endógenos da auxina. Esse efeito pôde ser comprovado por HAMMERSCHLAG (1982a) quando adicionou ácido clorogênico ao meio de cultura, observou uma maior multiplicação de brotos de porta enxertos de ameixeira.

Posteriormente, foi capaz de enraizar 100% dos brotos quando o ácido indole acético (AIA) foi incorporado ao meio de cultura. Entretanto, quando apenas a auxina estava presente somente obteve 30% de enraizamento.

Os resultados sugerem que o tratamento menos eficiente no meio líquido de cultivo, para os parâmetros avaliados foi com floroglucinol e, no meio sólido para o parâmetro número de propágulos o meio de cultura contendo carvão ativado (Figura 1). Embora

não tenha ocorrido diferença significativa entre o comprimento dos propágulos no meio sólido, o floroglucinol apresentou o maior valor e o carvão ativado o menor valor (Figura 2).

JONES (1976) adicionando floroglucinol ao meio de cultura contendo AIA obteve um aumento no número de brotos e promoveu a extensão dos internódios em brotos de macieira, indicando que o efeito sinérgico do floroglucinol com a auxina somente ocorre quando essa está presente no meio de cultura. Esse efeito também pôde ser observado por HACKETT (1970) em brotos de *Hedera*, quando utilizou 5,5mg l⁻¹ de catecol com 10mg l⁻¹ de AIA. FRIDBORG & ERIKSSON (1975) sugerem que o carvão ativado pode remover reguladores de crescimento, em particular a auxina do meio de cultura, promovendo a inibição do crescimento.

Os resultados obtidos nesse trabalho comparados com os da literatura, evidenciam a necessidade de incorporar uma auxina ao meio de cultura quando esses compostos estão presentes. No meio de cultura MS sem regulador de crescimento, observou-se que 70% dos propágulos provenientes do tratamento contendo ácido clorogênico enraizaram. Nos demais tratamentos não houve enraizamento. Vários compostos fenólicos atuam como co-fatores no enraizamento (GORTNER, 1969; JONES, 1976).

Os resultados obtidos nesse trabalho com o ácido clorogênico permite sugerir o envolvimento desse composto como co-fator na formação de raízes adventícias de erva-baleeira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FRIDBORG, G., ERIKSSON, T. Effects of activated charcoal on growth and morphogenesis in cell cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 34, p. 306-308, 1975.
- GORTNER, C. Auxin-synergists in rooting of cuttings. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 22, p. 497-502, 1969.
- GEORGE, E.F. *Plant propagation by tissue culture: part 2 in practice*. 2. ed. Somerset: Exegetics, 1996. Cap.12. p. 575-638.
- GHASHGHAIE, J., BRECKMANN, F., SAUGIER, B. Effects of agar concentration on water status and growth of rose plants cultured *in vitro*. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 82, p. 73-78, 1991.
- GUIA RURAL: *Ervas e temperos*. São Paulo: Abril, 1991. 170 p. (Ervas e Temperos, edição especial).
- HACKETT, W.P. The influence of auxin, catechol and methanolic tissues extracts on root initiation in aseptically cultured shoot apices of the juvenile and adult forms of *Hedera helix*. *Journal American Society Horticultural Science*, Alexandria, v. 95, n. 4, p. 398-402, 1970.

- HAMMERSCHLAG, F. Factors influencing *in vitro* multiplication and rooting of the plum roostock myrobalan (*Prunus cerasifera* Ehrh.). **Journal American Society Horticultural Science**, Alexandria, v. 107, n. 1, p. 44-47, 1982a.
- HAMMERSCHLAG, F. Factors affecting establishment and growth of peach shoots in vitro. **HortScience**, Alexandria, v. 17, n. 1, p. 85-86, 1982b.
- JONES, O.P. Effect of phloridzin and hloroglucinol on apples shoots. **Nature**, London, v. 262, n. 5567, p. 392-393, 1976.
- LAMEIRA, O.A., COSTA, M.P., PINTO, J.E.B.P. The efficiency of shoot and plantlet formation of *Cephaelis ipecacuanha* after three subcultures *in vitro*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 24, n. 3, p. 523-526, 1994.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.
- SILVA JUNIOR, A.A., VIZZOTTO, V.J., GIORGI, E., *et al.* **Plantas medicinais caracterização e cultivo**. Florianópolis: EPAGRI, 1995. 71p. Boletim Técnico, 68.
- SNIR, I., EREZ, A. In vitro propagation of Malling Merton apple rootstocks. **HortScience**, Alexandria, v. 15, n. 5, p. 597-598, 1980.