

XXV CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA

26 a 30 de Setembro de 2016

Todas as informações contidas neste trabalho, desde sua formatação até a exposição dos resultados, são de exclusiva responsabilidade dos seus autores

CONCENTRAÇÕES DE SAIS NO ESTABELECIMENTO E MANUTENÇÃO IN VITRO DE *PHYLA BETULIFOLIA*

T.T. ROCHA¹, F.N. RIBEIRO², C.M. GERMANO³, S. K.V. BERTOLUCCI⁴, O.A. LAMEIRA⁵, J.E. B.P. PINTO⁶

RESUMO: *Phyla betulifolia* (Kunth) Greene (Verbenaceae), popularmente conhecida como capim doce, é utilizada como calmante e no controle do diabetes. Visando estabelecer um protocolo para o estabelecimento e manutenção in vitro desta espécie, segmentos nodais foram inoculados em meio MS contendo três concentrações de sais. Os segmentos nodais cultivados em meio MS completo apresentaram maior porcentagem de sobrevivência e melhor desenvolvimento.

Palavras-chave: capim doce, diabetes, calmante.

INTRODUÇÃO

Phyla betulifolia (Kunth) Greene, pertence à família Verbenaceae, a qual possui distribuição neotropical (ATKINS et al., 2004). Segundo O'Leary e Múlgura (2011), *Phyla* é um pequeno gênero que pertence a tribo Lantaneae e é representado por cinco espécies e três variedades, destas, quatro espécies são encontradas apenas nas Américas, e uma delas, *P. nodiflora* (L.) Greene, é encontrada em todo o mundo em áreas tropicais e temperadas. *P. betulifolia* é encontrada na Costa Rica, Guatemala, Honduras, Panamá, Cuba, Trinidad nas Índias Ocidentais, Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Paraguai e Venezuela (O'LEARY E MÚLGURA, 2011). Na região Amazônica, é conhecida como capim doce, hortelã doce e estévia, suas folhas são utilizadas popularmente, como calmante e no controle de diabetes.

A micropropagação é de fundamental importância para melhorar a qualidade dos produtos agrícolas, dentre eles as plantas medicinais, nessa perspectiva, os meios nutritivos e sua composição são importantíssimos para a conversão dos explantes em plântulas e das plântulas em mudas, as quais tem o caráter clonal embutidos em sua natureza e por isso, possuem caráter de genótipo superior (Cid, 2015), ainda segundo o autor, se o meio nutritivo falhar, ou não for adequado em virtude de alguns de seus ingredientes, a obtenção de clones falha, portanto, o conhecimento a respeito do meio nutritivo é da máxima importância.

Devido à ausência de trabalhos a respeito do cultivo in vitro de *P. betulifolia*, o objetivo do trabalho foi determinar qual a melhor concentração de sais em meio MS para o estabelecimento e manutenção da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

As plantas foram estabelecidas no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Para a assepsia, foram retirados segmentos nodais com cerca de 1 cm, de plantas cultivadas em casa de vegetação. O material foi lavado em água corrente por 15 min, em seguida, levado para uma câmara de fluxo laminar, onde foi colocado em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) 50% sob agitação por 15 min, e lavados 3 vezes em água destilada autoclavada.

Para o estabelecimento *in vitro*, foram utilizados segmentos nodais de 1 cm contendo uma gema. Os explantes foram inoculados em tubo de ensaio com 15 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE E SKOOG, 1962) completo, MS com metade da concentração de sais (MS/2) e MS com 1/4 da concentração de sais (MS/4), suplementados com 30 g.L⁻¹ de sacarose, solidificado com 0,6% de ágar e o pH ajustado para 5,7 ± 0,1, e sem adição de regulador de crescimento.

¹Doutoranda, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, Brasil/DAG, tainarocho@yahoo.com.br.

²Doutoranda, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, Brasil/DAG, f.naira@hotmail.com.

³Doutoranda, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, Brasil/DAG, carolmgermano@gmail.com.

⁴Co-orientadora, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, Brasil/DAG, suzan@dag.ufla.br.

⁵Pesquisador, Embrapa Amazônia Oriental, Belém – PA, Brasil/Laboratório de Biotecnologia, osmar.lameira@embrapa.br.

⁶Orientador, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, Brasil/DAG, jeduardo@dag.ufla.br.

Após 15 dias foram avaliadas a porcentagem de sobrevivência e o comprimento da brotação para os três tipos de meio (MS, MS/2 e MS/4); e após 45 dias, para os seguimentos mantidos em meio MS e MS/2, foram avaliados os seguintes parâmetros: comprimento da brotação (CB), porcentagem de sobrevivência, área foliar (AF), massa seca da folha (MSF), comprimento do caule (CC), massa seca do caule (MSC), comprimento da maior raiz (CMR), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST) e razão raiz parte aérea (R/PA). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e ao teste de separação de médias de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 15 dias, os segmentos nodais cultivados em meio MS completo apresentaram maior porcentagem de sobrevivência e melhor desenvolvimento quando comparados com os segmentos mantidos em MS/2 e MS/4 (Figura 1 e Tabela 1). Em nenhum dos tratamentos houve inibição da formação de raízes, ocorrendo 100% de enraizamento dos explantes.

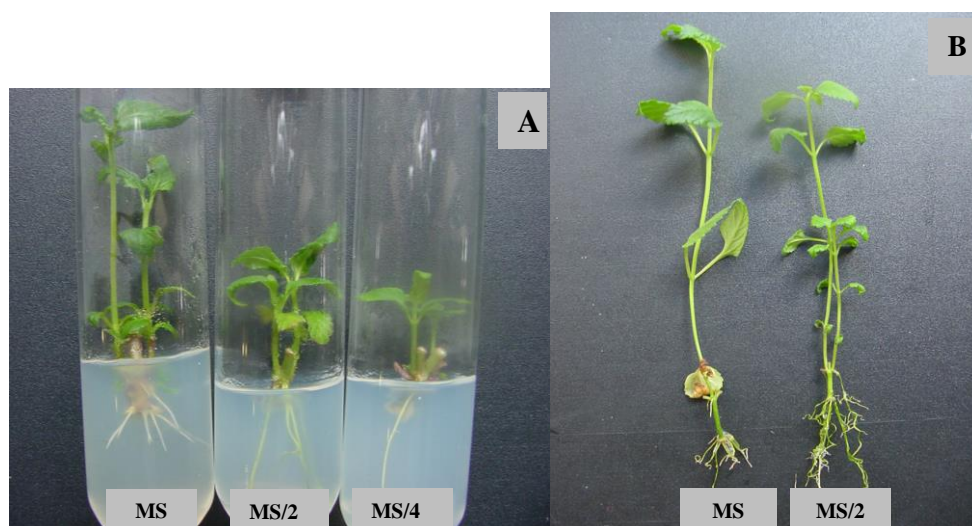


Figura 1. Desenvolvimento de explantes de *P. betulifolia* cultivados in vitro. A - após 15 dias; B - após 40 dias.

Tabela 1. Comprimento de brotação (cm) e % sobrevivência de explantes de *P. betulifolia*, após 15 dias. CB - comprimento da brotação.

Tipos de meio	CB (cm)	% Sobrevivência
MS	2,09a	68,57a
MS/2	1,22b	54,28b
MS/4	1,03b	54,28b

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente, entre si, ao nível de 5% pelo teste de Scott-Knott.

Após 45 dias, as plantas cultivadas em meio MS apresentaram maior comprimento de brotação (2,32 cm), maior área foliar (1,71 cm²) e maior massa seca da folha (60 mg), quando comparados com

¹Doutoranda, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, Brasil/DAG, tainarocho@yahoo.com.br.

²Doutoranda, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, Brasil/DAG, f.naira@hotmail.com.

³Doutoranda, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, Brasil/DAG, carolmgermano@gmail.com.

⁴Co-orientadora, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, Brasil/DAG, suzan@dag.ufla.br.

⁵Pesquisador, Embrapa Amazônia Oriental, Belém – PA, Brasil/Laboratório de Biotecnologia, osmar.lameira@embrapa.br.

⁶Orientador, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, Brasil/DAG, jeduardo@dag.ufla.br.

XXV CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA

26 a 30 de Setembro de 2016

Todas as informações contidas neste trabalho, desde sua formatação até a exposição dos resultados, são de exclusiva responsabilidade dos seus autores

os valores encontrados para as plantas cultivadas em meio MS/2 (Figura 1 e Tabela 2). Os sais inorgânicos proveem os macronutrientes (cálcio, magnésio, enxofre, potássio, fósforo e nitrogênio) e os micronutrientes (zinco, ferro, cobre, manganês, cloro, molibdênio e boro), esses elementos são considerados essenciais para o desenvolvimento da planta (Cid, 2015).

Tabela2. Dados de crescimento de *P. betulifolia* cultivada *in vitro* após 40 dias. CB - comprimento da brotação; % de sobrevivência; AF - área foliar; MSF - massa seca da folha; CC - comprimento do caule; MSC - massa seca do caule; CMR - comprimento da maior raiz; MSR - massa seca da raiz; MST - massa seca total; R/PA - razão raiz parte aérea.

Tipos de meio	CB (cm)	% Sobrevivência	AF (cm ²)	MSF (mg)	CC (cm)	MSC (mg)	CMR (cm)	MSR (mg)	MST (mg)	R/PA
MS	2,32a	80,55*	1,71a	60a	8,36*	40*	17,25*	30*	130*	0,30*
MS/2	1,79b	79,16*	1,06b	50b	7,55*	40*	14,35*	20*	110*	0,22*

*Não Significativo. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente, entre si, ao nível de 5% pelo teste de Scott Knott.

Costa et al. (2007) não observaram diferença significativa para os tipos de meio no estabelecimento de alecrim pimenta (*Lippia sidoides*), optando por utilizar o meio MS, por ser o meio padrão mais empregado na cultura de tecidos. Para *Lippia gracilis*, a utilização de MS com metade dos sais (MS/2) apresentou melhores porcentagens de brotação (MARINHO et al., 2011).

CONCLUSÃO

A melhor concentração de sais para o estabelecimento e manutenção de explantes *in vitro* de *Phyla betulifolia* é o meio MS completo.

AGARDECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG, CAPES e ao CNPq.

REFERÊNCIAS

ATKINS, S. Verbenaceae. In: KADEREIT, J. W. (ed.). The families and genera of flowering plants. Vol. 7. **Springer-Verlag**, Berlin. Pp. 449-468. **2004**.

COSTA, A.S.; 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. 068-072. **2007**.

CID, L.P.B. **Cultivo in vitro de plantas**. 4. Ed. – Brasília, DF: Embrapa, 2015. E-book.

MARINHO, M.J.M.; ALBUQUERQUE, C.C.; MORAIS, M.B.; SOUZA, M.C.G.; Silva, K.M.B. Estabelecimento de protocolo para micropropagação de *Lippia gracilis* Schauer. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, n.2, p.246-252, **2011**.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid Growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-97, **1962**.

O'LEARY, N.; MÚLGURA, M. E. A Taxonomic Revision of the Genus *Phyla* (Verbenaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 98(4):578-596. 2011

¹Doutoranda, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, Brasil/DAG, tainarocho@yahoo.com.br.

²Doutoranda, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, Brasil/DAG, f.naira@hotmail.com.

³Doutoranda, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, Brasil/DAG, carolmgermano@gmail.com.

⁴Co-orientadora, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, Brasil/DAG, suzan@dag.ufla.br.

⁵Pesquisador, Embrapa Amazônia Oriental, Belém – PA, Brasil/Laboratório de Biotecnologia, osmar.lameira@embrapa.br.

⁶Orientador, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, Brasil/DAG, jeduardo@dag.ufla.br.