

Efeitos de diferentes concentrações de nitrato de amônio e nitrato de potássio na micropropagação da *valeriana officinalis* L. (valerianaceae)**Effects of different concentrations of ammonium nitrate and potassium nitrate on the micropropagation of *valeriana officinalis* L. (valerianaceae)**

DOI:10.34117/bjdv6n11-062

Recebimento dos originais: 05/10/2020

Aceitação para publicação: 05/11/2020

Osmar Alves Lameira

Doutor em Agronomia (Fitotecnia) pela Universidade Federal de Lavras

Instituição: Embrapa Amazônia Oriental

Endereço: Travessa Dr. Enéas Pinheiro, s/n, Marco, Belém - PA, Brasil.

E-mail: osmar.lameira@embrapa.br

Simone de Miranda Rodrigues

Doutora em Genética e Melhoramento pela Universidade Federal de Viçosa

Instituição: Embrapa Amazônia Oriental

Endereço: Travessa Dr. Enéas Pinheiro, s/n, Marco, Belém - PA, Brasil.

E-mail: simone.rodrigues@embrapa.br

Keila Jamille Alves Costa

Mestranda em Uso Sustentável de Recursos Naturais em Regiões Tropicais

Instituição: Instituto Tecnológico da Vale

Endereço: Rua Boaventura da Silva, 955, Nazaré, Belém - PA, Brasil.

E-mail: keilajamille@gmail.com

Meiciane Ferreira Campelo

Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia pela Rede Bionorte-PPGBionorte

Instituição: Universidade Federal do Pará (UFPA)

Endereço: Rua Augusto Corrêa, 01 – Guamá, Belém – PA, Brasil

E-mail: meicianecampelo@gmail.com

Ruanny Karen Vidal Pantoja Portal Moreira

Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia pela Rede Bionorte-PPGBionorte

Instituição: Universidade Federal do Pará (UFPA)

Endereço: Rua Augusto Corrêa, 01 – Guamá, Belém – PA, Brasil

E-mail: ruanny_vidal@hotmail.com

Ana Caroline Batista da Silva

Graduanda em Agronomia pela Universidade Federal Rural da Amazônia

Instituição: Embrapa Amazônia Oriental

Endereço: Travessa Dr. Enéas Pinheiro, s/n, Marco, Belém - PA, Brasil.

E-mail: anacarolinebatista79@gmail.com

Allan Christiam Santos Ramires

Graduando em Agronomia pela Universidade Federal Rural da Amazônia
 Instituição: Embrapa Amazônia Oriental
 Endereço: Travessa Dr. Enéas Pinheiro, s/n, Marco, Belém - PA, Brasil.
 E-mail: allanramires15@gmail.com

Amanda Nascimento Monteiro

Graduanda em Agronomia pela Universidade Federal Rural da Amazônia
 Instituição: Embrapa Amazônia Oriental
 Endereço: Travessa Dr. Enéas Pinheiro, s/n, Marco, Belém - PA, Brasil.
 E-mail: amandamonteiro788@gmail.com

RESUMO

Valeriana officinalis L consiste em uma planta herbácea, pertencente à família Valerianaceae conhecida popularmente como valeriana selvagem. Possui uso medicinal para tratamento de dores de cabeça, náuseas, distúrbios hepáticos, antídoto e insônia. Uma das formas de propagação da espécie se dá através da micropropagação que constitui um modo de manter sempre disponíveis explantes saudáveis e livres de contaminação para aplicação de técnicas de regeneração por cultura de tecidos e transformação genética, além de ser altamente conveniente para manutenção de coleções de plantas de genótipos diferentes, livres de patógenos. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes concentrações dos compostos minerais, nitrato de amônio e nitrato de potássio na micropropagação da *Valeriana officinalis* visando à redução de custos do meio de cultura MS. O experimento é composto por diferentes concentrações e fontes de nitrato na composição do meio de cultura MS (MS + ½ NH₄NO₃, MS + ½ KNO₃, MS + ¼ NH₄NO₃, MS + ¼ KNO₃ e MS completo) totalizando cinco tratamentos, com quatro repetições composta por dois frascos contendo três explantes cada. Após 64 dias da inoculação foi feita a pesagem das plântulas por inteira com o auxílio de balança de precisão, para obter os valores de peso médio de massa fresca e após secagem em estufa por três dias na temperatura de 36⁰ C e aos 67 dias obteve valores médio de massa seca. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Houve diferença estatística nos tratamentos apenas para a variável peso de massa seca, onde o tratamento mais significativo MS + ¼ KNO₃ obteve 0,17 g e o de menor peso significativo foi o meio MS + ½ NH₄NO₃ com 0,08 g. Houve efeito das concentrações de nitrato de potássio na micropropagação da *V. officinalis* L. podendo o meio de cultura MS com ¼ KNO₃ ser indicado para o cultivo.

Palavras-chave: cultura de tecido, plantas medicinais, meio de cultura.

ABSTRACT

Valeriana officinalis L consists of a herbaceous plant, belonging to the Valerianaceae family popularly known as wild valerian it has medicinal use to treat headaches, nausea, liver disorders and antidote, insomnia. One of the ways of propagating the species is through micropropagation, which is a way to keep healthy explants and contamination free at all times for the application of regeneration techniques by tissue culture and genetic transformation, in addition to being highly convenient for maintaining collections of plants of different genotypes, free of pathogens. The aim of this study was to evaluate the effect of different concentrations of the mineral compounds ammonium nitrate and potassium nitrate on the micropropagation of *Valeriana officinalis* aiming to reduce the costs of the MS culture medium. The experiment consists of different concentrations and sources of nitrate in the composition of the MS culture medium (MS + ½ NH₄NO₃, MS + ½ KNO₃, MS + ¼ NH₄NO₃, MS + ¼ KNO₃ and complete MS) totaling five treatments, with four repetitions composed for two bottles containing three explants each. After 64 days of inoculation, the seedlings were weighed entirely with the aid of a precision scale, obtained values of average fresh weight and after drying in an oven for 3 days at a temperature of 36⁰ C on day 67 average dry mass values. The data were submitted to analysis

of variance and the means compared by the Tukey test at 5% significance. There was a statistical difference in treatments only for the dry weight weight variable, where the most significant treatment MS + $\frac{1}{4}$ KNO₃ obtained 0.17 g and the one with the least significant weight was the medium MS + $\frac{1}{2}$ NH₄NO₃ with 0.08 g. There was an effect of potassium nitrate concentrations on the micropropagation of *Valeriana officinalis* L. and the MS culture medium with $\frac{1}{4}$ KNO₃ can be indicated for cultivation.

Keywords: tissue culture, medicinal plants, culture medium.

1 INTRODUÇÃO

Valeriana officinalis L. pertence à família botânica Valerianaceae, com distribuição geográfica nas regiões subpolares da Europa e Ásia, conhecida popularmente como erva-dos-gatos, valeriana-selvagem, valeriana-silvestre, dentre outros (CUNHA et al., 2003). Seu potencial medicinal é o que ressalta a importância da espécie. O uso tradicional da espécie está relacionada a tratamentos antiespasmódico, digestivo, sedativo, possui indicações terapêuticas para insônia e ansiedade, contudo as Indicações terapêuticas aprovadas pela Anvisa (IN 02/ 2014) estão relacionadas a atividades de Sedativo moderado, hipnótico e no tratamento de distúrbios do sono associados à ansiedade.

As técnicas de cultura de tecidos são bastante aplicadas em pesquisas envolvendo plantas medicinais, com ênfase na micropropagação, cujos protocolos permitem estabelecer padrões para a multiplicação massal de várias espécies. Além disso, essa ferramenta biotecnológica permite a produção de metabólitos secundários *in vitro*, assegurando, assim, formas alternativas para a exploração sustentável de algumas espécies, principalmente em ecossistemas ameaçados. A aplicação das técnicas de cultura de tecidos em plantas medicinais tem como perspectivas a obtenção de germoplasma competitivo e adaptado a diversos métodos de cultivo, escolha de novas espécies que servirão como fonte de compostos biologicamente ativos e aprimoramento da produção de fitofármacos (MORAIS, 2012).

Dentre os meios de cultura utilizados, o meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) é o mais usado sendo o nitrato de potássio um composto importante para o meio de cultura, pois o nitrogênio e o potássio regulam o potencial osmótico, além de controlar o desenvolvimento das raízes (SANTOS et al., 2010).

2 OBJETIVO

Diante disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito das diferentes concentrações dos compostos minerais nitrato de amônio e nitrato de potássio na micropropagação da *Valeriana officinalis* L. visando à redução de custos do meio de cultura MS.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia Vegetal, da Embrapa Amazônia Oriental situada no município de Belém-PA. As plântulas de *Valeriana officinalis* L. utilizadas foram oriundas do cultivo in vitro e inoculadas sob condições assépticas em frascos de vidro contendo 30 mL de meio de cultura MS e posteriormente acondicionados em sala de crescimento com fotoperíodo de 16h de luz branca fria dia⁻¹ e temperatura de 25±3°C, durante 64 dias. O meio de cultura utilizado foi o MS e os tratamentos foram constituídos por variações na concentração e fontes de nitratos (MS completo, MS + ½ NH₄NO₃, MS + ½ KNO₃, MS + ¼ NH₄NO₃ e MS + ¼ KNO₃).

A avaliação do peso médio da massa fresca ocorreu 64 dias após a inoculação, sendo pesada a plântula completa, enquanto que a avaliação do peso médio da massa seca ocorreu 67 dias após a inoculação, ou seja, considerou-se três dias de secagem em estufa. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e 4 repetições, sendo 2 frascos por repetição contendo 3 explantes cada. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância com o auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011) e o software Excel foi usado para realizar as análises de regressão linear dos tratamentos para as espécies.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme revela a Tabela 1, foi observado que os tratamentos diferiram estatisticamente apenas para a variável peso de massa seca, onde o tratamento mais significativo foi o meio de cultura MS + ¼ KNO₃ com 0,17 g e o menos significativo foi o meio de cultura MS + ½ NH₄NO₃ com 0,08 g o qual apresentou menor média de peso de massa seca. Para a variável peso de massa fresca a maior média foi 1,16 g obtida no tratamento MS + ¼ NH₄NO₃ e a menor média com 0,56 g foi obtida no tratamento MS. Tais diferenças observadas podem estar relacionadas ao fato da absorção e assimilação de nitrogênio (N) está ligada a processos multiregulados e integrados ao metabolismo geral da planta, onde a fonte de N pode ser importante, especialmente, em condições de crescimento nas quais a disponibilidade de energia é limitante (BREDEMEIE, MUNDSTOCK, 2000).

Tabela 1. Valores médios de peso de massa fresca e massa seca de plântulas *Valeriana officinalis* L em diferentes concentrações dos compostos minerais nitrato de amônio e nitrato de potássio.

Meio de Cultura	Massa Fresca (g)	Massa Seca (g)
MS	0.56 a	0.10 ab
MS + ½ NH ₄ NO ₃	0.63 a	0.08 b
MS + ½ KNO ₃	0.82 a	0.12 ab
MS + ¼ NH ₄ NO ₃	1.16 a	0.15 ab

MS + ¼ KNO₃

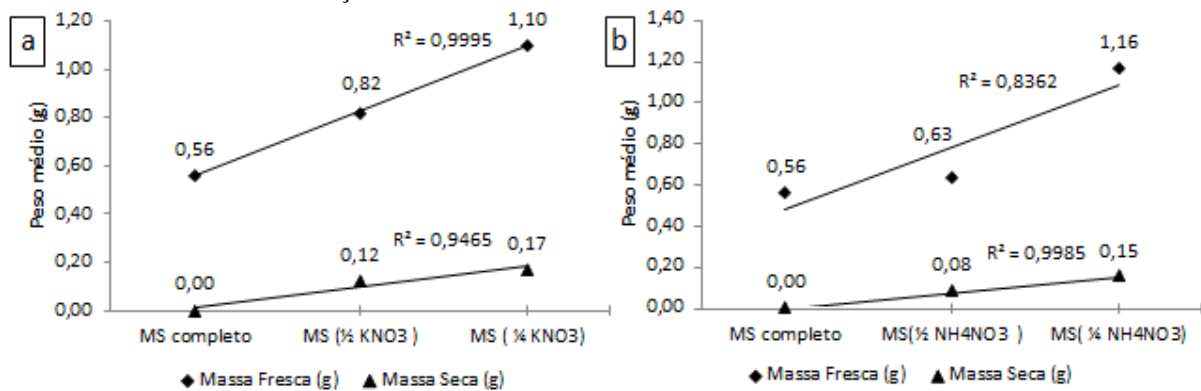
1.10 a

0.17 a

Médias seguidas com a mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Os gráficos de regressão linear que constituem a Figura 1a (nitrato de potássio) e Figura 1b (nitrato de amônio) mostram que para a *Valeriana officinalis* L as variáveis analisadas apresentam uma diminuição no peso médio de massa fresca e seca à medida que se aumenta as concentrações das fontes de nitrato, ou seja observando a linha de tendência notasse que as concentrações de NH₄NO₃ e KNO₃ são inversamente proporcional a produção de biomassa na micropropagação da espécie.

Figura 1. Media de peso de massa fresca e massa seca provenientes da micropropagação de *Valeriana officinalis* L em meio MS com diferentes concentrações de KNO₃ e NH₄NO₃ aos 64 dias de cultivo *in vitro*.



Carvalho (2005) trabalhando com plantas de *V. herbacea* tratadas com baixo teor de nitrogênio (2,5 mmol L⁻¹ de nitrato) verificou que as plântulas apresentaram atividades de síntese superiores às tratadas com teor mais elevado de nitrogênio (11,9 mmol L⁻¹ de nitrato), e valores maiores de biomassa aérea e subterrânea foram encontradas nas plantas que receberam baixa concentração de nitrogênio, não sendo possível afirmar que baixos níveis de nitrato limitaram o crescimento da planta.

5 CONCLUSÃO

As diferentes concentrações dos compostos minerais nitrato de amônio e nitrato de potássio no cultivo *in vitro* da *Valeriana officinalis* L apresentaram respostas significativas. Logo o meio de cultura MS composto de ¼ KNO₃ pode ser indicado na micropropagação da espécie visando redução de custos da manutenção e multiplicação da espécie.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, M. A. M. de; SENA NETO, R. A. de; HAGE, E.; MATTOSO, L. H. C.; MARCONCINI, J. M. Curaua leaf fiber (*Ananas comosus* var. *erectifolius*) reinforcing poly (lactic acid) biocomposites: formulation and performance. **Polymer Composites**, v.36, p.1520-1530, 2015.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico**. Brasília, DF: ANVISA, p.123, 2014.
- BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, v.30, n.2, p.365-372, 2000.
- CARVALHO, P. G. de. Efeitos do nitrogênio e no metabolismo de frutanos em *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2005. 101p.
- CUNHA, A. P.; SILVA, A. P.; ROQUE, O. R. Plantas e produtos vegetais em fitoterapia. Lisboa: **Fundação Calouste Gulbenkian**, 2003. p.634-635.
- MORAIS, T.P.; Luz, J.M.Q.; Silva, S.M.; Resende, R.F.; Silva, A.S. Aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n.1, p.110-121, 2012.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays whith tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, n.3, p.473-497, 1962.
- LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**. Nova Odessa, São Paulo, Brasil, 1982. 372p.
- SANTOS, T. L.; ALMEIDA, C. V.; BRONDANI, G. E.; ALMEIDA, M. Nitrato de amônio e nitrato de potássio no desenvolvimento in vitro de embriões somáticos de pupunheiras. **Ciência Rural**, v.40, n.7, p.1655-1659, 2010.