

## Cultivo in vitro da planta medicinal Mama Cadela.

Iraci Fidelis; José E.B.P.Pinto<sup>1</sup>; Evaristo M. Castro; Ana V. Souza; Osmar A. Lameira; Edson A. Santiago; Isabella A. Nougalli

<sup>1</sup> UFLA, C. Postal 37 37200-000, Lavras-MG, jeduardo@ufla.br

### ABSTRACT

#### In vitro culture of medicinal plant "Mama-Cadela".

Nodal segments number of *Brosimum gaudichaudii* was obtained from three subcultures in MS medium. The rooting occurred in liquid medium with 1/4 of the salts of MS, changing the pH (3,5; 4,5; 5,5 and 6,5) supplemented or not with 1,0 mg/L IBA. It was reported anatomic comparison of tissues "in vitro" and "in vivo". After three subculture, an average of 3,54 nodal segments was obtained. The nodal segments showed better rooting with pH more acid and with IBA. Anatomic organizations of tissues were different "in vivo" and "in vitro".

**Keywords:** *Brosimum gaudichaudii*, micropropagation, anatomics structures.

**Palavras-chave:** *Brosimum gaudichaudii*, micropropagação, estruturas anatômicas.

Dois estratégias têm sido utilizadas para a micropropagação em plantas lenhosas: a regeneração de calos e a multiplicação de brotos (Einset, 1986). A regeneração de calos resulta em alta percentagem de variação somaclonal, tornando questionável para multiplicação clonal. Já a multiplicação de brotos é segura e pode ser usada para a produção de clones. Plantas lenhosas propagadas "in vitro" são afetadas por presença de fatores do meio de cultura que conduzem à degeneração metabólica e morfológica. As desordens anatômicas são menos extensas no caule e raízes. Estas modificações impedem o estabelecimento "ex vitro" de plantas micropropagadas, de *Brosimum gaudichaudii* Tréc. (Moraceae), espécie medicinal usada no tratamento do vitiligo. O extrativismo, pode levá-la ao desaparecimento. O trabalho propõe método de propagação "in vitro" e estudo anatômico das estruturas vegetativas desenvolvidas "in vitro" e "in vivo".

#### MATERIAL E MÉTODOS

Sementes foram inoculadas em meio de cultura Murashige & Skoog (1962)-MS completo. Após a germinação, fez-se uma repicagem dos segmentos nodais. As sementes permaneceram no frasco com uma gema nas plântulas germinadas e repicadas.

Aos 62 dias, repicaram-se novamente os segmentos nodais que haviam crescido, colocando 5 ml de meio MS em cada tubo de ensaio. Aos 88 dias, fez-se uma última repicagem, obtendo desta forma um número de segmentos nodais (clones) de uma mesma semente. No enraizamento foram utilizados segmentos nodais de 13 mm com 1 a 2 gemas; 1/4 dos sais do Murashige & Skoog (1962)-MS, em solução líquida, suplementado com ácido indol butírico (AIB) 0 ou 1 mg/L, variando o pH em 3,5; 4,5; 5,5 e 6,5. Os explantes foram fixados em Glutaraldeído 3%, solução tampão de fosfato de potássio a 0,1 pH 7.4 (12 horas); lavados em solução tampão (15 minutos); fixados com Tetróxido de Ósmio a 1% (2 a 4 horas); lavados com a solução (15 minutos); desidratados em acetona (30 a 100%) por 15 minutos; após, os explantes foram colocados em clorofórmio (12 horas); e secos em temperatura ambiente, montados e metalizados.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A repicagem das brotações da semente, mostrou ser viável para obtenção de plântulas "in vitro" (Tabela 1).

Aos 35 dias (primeira repicagem) foram obtidos 5 segmentos nodais com um tamanho de 1,6 cm e com 1,8 gemas. Na segunda repicagem (62

dias) foram obtidos 3 segmentos nodais com 1,5 cm e 1,3 gemas e na terceira (88 dias) a semente produziu mais 3 segmentos nodais com 1,3 cm contendo 1 gema. Após 110 dias da inoculação, avaliou-se os 11 segmentos nodais e os mesmos estavam com 3,5 cm e 3,5 gemas por segmento nodal. Estes resultados obtidos, são semelhantes aos observados por Scott, Rao & Loh (1995) em *Hopea odorata* Roxb. (Dipterocarpaceae), espécie recalcitrante, da qual foram produzidos de 1 a 4 brotos axilares da mesma semente cultivada nos meios MS e B<sub>5</sub>, não havendo diferenças quanto ao meio utilizado. Segmentos nodais cultivadas no meio MS líquido (1/4 dos sais), com pH entre 3,5; 4,5; 5,5 e 6,5 adicionados ou não com 1,0 mg/L de AIB apresentaram diferenças significativas, resumidas na Tabela 2.

Pela Tabela 2, verifica-se diferenças significativas para pH ( $P < 0,05$ ), para tamanho raízes e AIB ( $P < 0,05$ ) para tamanho de brotações e de raízes. Efeito interativo entre pH e AIB só foi significativo para número de raízes. Não observou-se diferença significativa quanto ao número de raízes. Já o tamanho das raízes era de 1,48 cm no pH 3,5 caindo nos demais pH até atingir o tamanho de 0,9 cm no pH 6,5. Esta redução representou 38% a menos no tamanho de raízes no pH 6,5 em relação ao pH 3,5.

**Tabela 1.** Tamanho (Tam.) (cm) e número de gemas (N.G) obtidos em três repicagens feitas na mesma semente cultivada "in vitro".

1ª repicagem		2ª repicagem		3ª repicagem	
Tam	N.G	Tam	N.G	Tam	N.G
1,5	2	2,0	2	1,5	1
2,0	2	2,0	1	1,5	1
1,5	1	0,5	1	0,9	1
1,5	3				
1,5	1				

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância (quadrado médio e significância) para número e tamanho de raízes e tamanho de brotos, para segmentos nodais cultivados in vitro no meio MS líquido (1/4 dos sais) em quatro níveis de pH, na presença ou não de AIB.

Fonte de variação	G. L	Número raízes	Tamanho raízes	Tamanho Brotos
PH	3	0,0901 <sup>NS</sup>	0,5791*	0,0376 <sup>NS</sup>
AIB	1	0,1138 <sup>NS</sup>	0,5607*	0,2663*
PH x AIB	3	0,0767*	0,4508 <sup>NS</sup>	0,0415 <sup>NS</sup>
Erro	16	0,0300	0,1520	0,0578
CV%		15,8	32,6	18,2
Média		1,20	1,19	1,32

\* significativo a 5% pelo teste F.

<sup>ns</sup> não significativo

Num corte transversal da nervura central, na parte mediana da folha, vê-se que a organização anatômica dos tecidos "in vitro" é diferente daquelas "in vivo". Nota-se, "in vivo", uma es-

trutura dorsiventral. A epiderme da face adaxial é formada por uma camada de células e intercaladas por tricomas simples e secretores. O mesofilo apresenta o parênquima pa-

liçádico constituído de uma camada de células; o parênquima lacunoso, compactado, apresenta duas camadas de células. "In vitro", a epiderme da face adaxial também apresenta uma camada de células com tricomas simples e secretores, porém mais elevado em relação a "in vivo". "In vitro", o mesofilo apresenta de 3-4 estratos de células, sem diferenças no formato. O exame da seção histológica, preparado para microscopia eletrônica, revelou que as folhas de plantas crescidas "in vitro" apresentaram-se menos espessadas, tinham um pobre desenvolvimento da camada paliçádica com um significativo espaço de ar no mesofilo, quando comparada às plantas da casa de vegetação. Grout & Aston (1978) obtiveram resultados semelhantes em plântulas micro-propagadas de couve-flor.

#### LITERATURA CITADA

- EINSET, J.W. A practical guide to woody plant micropropagation. *Arnoldia*, Jamaica Plain, v.46, p.36-44, 1986.
- GROUT, B.W.W.; ASTON, M.J. Modified leaf anatomy of cauliflower plantlets regenerated from meristem culture. *Annal Botany*, London, v.42, p. 993-995, 1978.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biosays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.15 p.473-497, 1962.
- SCOTT, E.S.; RAO, A.N.; LOH, C.S. Preliminary studies of micropropagation of *Hopea odorata*, a dipterocarp tree. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Dordrecht, v.41, n.2, p. 193-196, May 1995.

## Germinação de embrião de Mama-Cadela "in vitro".

Ana V. Souza; José E.B.Pinto<sup>1</sup>; Iraci Fidelis; Osmar A. Lameira; Fabiano G. Silva; Edson A. Santiago

<sup>1</sup>UFLA/DAG, C. Postal 37, 37200-000, Lavras-MG, jeduardo@ufla.br

### ABSTRACT

#### In vitro embryo germination of Mama-Cadela.

In vitro embryo of mama-cadela was cultivated on different media and different concentration. The embryo germination was evaluated at 10<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> days, the plantlet size, bud number, root number at 30 and 60 days on water; MS; MS/2; MS/4; WPM and WPM/2. There are no difference between MS/2, MS/4, WPM and WPM/2 in embryo germination, however on MS and water had less germination. For plantlet size and bud number the best treatment occurred on MS/2 and MS/4, and rooting occurred on WPM/2.

**Keywords:** *Brosimum gaudichaudii*, medicinal plant, tissue culture.

**Palavras-chave:** *Brosimum gaudichaudii*, planta medicinal, cultura de tecidos.