

Estabelecimento da concentração de nitrogênio total no meio de cultura para micropropagação de ipeca, *Psychotria ipecacuanha* (brot.) Stokes.

Patricia Schober G. Lima¹; Érika S. Reis¹; Ricardo M.Corrêa¹; Marcelo Cirillo¹; José Eduardo B. P. Pinto¹; João B. dos Santos¹; Osmar A. Lameira²

¹ Universidade Federal de Lavras (UFLA) - Depto de Agricultura (DAG) - Setor de Plantas Medicinais, CP.37, Lavras - MG, CEP 37200-000, E-mail: patriciaschober@hotmail.com, jeduardo@ufla.com.br; ² Embrapa - PA;

RESUMO

A ipeca (*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes.) é reconhecida mundialmente como planta medicinal. São produzidas em suas raízes a emetina e a cefalina, dois alcalóides de grande valor farmacológico. Sendo nativa da Mata Atlântica e estando ameaçada por ter sofrido intenso extrativismo e por ter suas áreas de ocorrência natural reduzidas no presente, a ipeca é uma espécie passível de se adequar a um sistema de cultivo economicamente viável. A tecnologia do cultivo in vitro constitui uma alternativa promissora para o suprimento constante e homogêneo de material vegetal. Visando o estabelecimento de um meio de cultura adequado para o cultivo in vitro de ipeca, foram testadas 6 variações (0; 7.5; 15; 30; 45 e 60mM) da concentração de nitrogênio total da solução original do meio MS suplementado ou não com 2 mg/l de BAP. Verificou-se que a aplicação de 2mg/L de BAP possui um efeito significativamente positivo na produção de matéria seca, exceto na ausência de nitrogênio no meio de cultura (dosagem de 0 mM de N total). Quanto as concentrações de nitrogênio, a aplicação de 30 mM apresentou maior efeito.

Palavras-chave: *Psychotria ipecacuanha* (brot.) Stokes, regulador de crescimento, Benzilaminopurina (BAP), planta medicinal.

ABSTRACT

Establishment of total nitrogen concentration on basic medium for micropropagation of ipecac, *Psychotria ipecacuanha* (brot.) stokes.

The ipecac (*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes.) is a worldwide recognized medicinal plant. In their roots are produced the emetin and cephaelin, two important alkaloids of pharmacological value. This is a native specie of Mata Atlântica Forest threat for intense extrativism and their reduced natural incident area at the present, the ipecac is a specie subject to a viable economic cultivation system. The technology of in vitro cultivation is a promising alternative to maintain a constant and uniform supply of vegetal material. Aimed the

establishment of an appropriate culture media for ipecac micropropagation, it was test 6 variations (0; 7.5; 15; 30; 45 e 60mM).of nitrogen concentrations of original media MS solution supplemented or not, with 2 mg/L BAP. It was check that the 2mg/L of BAP application had a positive result, except in the absence of nitrogen in the culture media (0mM of N total concentration). As for nitrogen concentration, the 30 mM application presents the better results.

Key words: *Psychotria ipecacuanha* (brot.) Stokes, growth regulator, Benzilaminepurine, medicinal plant.

A ipeca (*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes.) é reconhecida mundialmente como planta medicinal. São produzidas em suas raízes dois alcalóides de grande valor farmacológico: A emetina e a cefalina, que apresentam efeito emético considerável e expectorante em doses atenuadas, utilizados no tratamento da amebíase e disenteria correspondente (SOUZA et al., 1991).

O sucesso de um sistema de micropropagação depende do controle de um grande número de variáveis. Todos os componentes de um meio de cultura podem afetar a morfogênese in vitro, todavia recentemente, as atenções têm se voltado para o nitrogênio e, em especial, ao nitrogênio reduzido (AMMIRATO,1985). A suplementação do meio quanto as fontes nitrogenadas na maioria das vezes é através de íons NH_4^+ e NO_3^- . (SATO,1994). Além disto, para cultura de tecidos os reguladores de crescimento são essenciais, as citocininas têm sido mostradas por causar inicio de brotação em muitas plantas. Dentre esta classe de reguladores de crescimento, o BAP (benzilaminopurina) tem se mostrado dos mais eficazes na ação indutora de brotos.

Através deste trabalho procurou-se estabelecer uma concentração adequada das concentrações de nitrogênio em meio de cultura MS para micropropagação de ipeca, *Psychotria ipecacuanha* (brot.) Stokes.

MATERIAL E MÉTODOS

O material utilizado constituiu-se de segmentos internodais provenientes de plantas obtidas a partir de cultura de gemas de raiz estabelecidas in vitro, no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Lavras (UFLA) utilizando-se o meio básico de MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) acrescido de 2mg/L de BAP (6-benzilaminopurina), alternado com meio básico MS acrescido de $0,5mg.L^{-1}$ de GA_3 (ácido giberélico).

Para testar a concentração de nitrogênio total no meio de cultura suplementado ou não com 2 mg/L de BAP, variaram-se as concentrações de nitrato de amônio e nitrato de potássio da solução original do MS conforme a Tabela 1

Tabela 1. Concentração (mM) de N total com ou sem 2 mg/L de BAP nos diferentes tratamentos testados para o cultivo in vitro de ipeca.

	Dosagens de Nitrogênio Total (mM)					
	0.00	7.50	15.00	30.00	45.00	60.00
Com BAP (2mg/L)	Tratamento1	Tratamento2	Tratamento3	Tratamento4	Tratamento5	Tratamento6
Sem BAP	Tratamento7	Tratamento8	Tratamento9	Tratamento10	Tratamento11	Tratamento12

O meio de cultura básico utilizado foi o de Murashige e Skoog, 1962 (MS), acrescido 6,0 g/l de Agar, com o pH ajustado para 5.8 ± 1 e autoclavado por 20 minutos à uma temperatura de 121°C à pressão de 1 atmosfera. As plântulas foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 30 ml de meio de cultura sob condições estéreis, e transferidas para a sala de crescimento com um fotoperíodo de 16 horas, temperatura de $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$, e intensidade luminosa de 1500 lux.

As características avaliadas após 90 dias foram as seguintes: peso das matérias fresca e seca da parte aérea juntamente com o explante primário e taxa de multiplicação. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com os tratamentos dispostos em um esquema fatorial 2×6 onde os fatores foram BAP e dosagens de nitrogênio, com 10 repetições, sendo 3 tubos de ensaio por repetição. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, utilizando os níveis de significância de 5% para o teste de F.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificada as suposições do teste F foi feita uma análise de variância que mostrou a um nível de 5% de significância, que houve interação entre os fatores dosagens de nitrogênio e ausência ou presença de BAP. Devido à interação ser significativa foi feito um desdobramento dos graus de liberdade para cada fator, visando investigar a influência da na aplicação ou não de BAP na concentração de nitrogênio.

Para a concentração de nitrogênio de 0 mM constatou-se que não há diferença na presença ou ausência de BAP, tanto na formação de matéria seca como na formação de brotos como pode ser verificado na tabela2.

Tabela 2. Médias ajustadas ao modelo para os níveis do fator concentração de nitrogênio.

Concentrações Nitrogênio (mM)	Presença de BAP		Ausência de BAP	
	Matéria seca	Taxa Multiplicação	Matéria seca	Taxa Multiplicação
0,0	1,4718	0,2	1,4591	0,1
7,5	1,3988	1,2	1,4997	0,43
15,0	1,3886	1,26	1,4557	0,13
30,0	1,3401	2,26	1,4200	0,70
45,0	1,3325	2,83	1,4293	0,03
60	1,2816	3,23	1,5040	0,04
CV(%) = 6,340	DP=0.0897			

Já para as demais concentrações, verificou-se que na presença de BAP a formação de brotos foi maior do que na ausência do hormônio. Para concentração de 60 mM ocorreu na presença de BAP, a maior formação de brotos. No entanto, estes se mostraram pouco

vigorosos e pequenos apresentando apenas um indício de formação de folhas. Para as concentrações de 30 mM e 45 mM, também na presença de BAP, os brotos formados apresentaram-se bastante vigorosos com 1 a 2 pares de folhas e com 1 a 2,5 cm de comprimento. Para a concentração de 15 mM, os brotos formados apresentaram o mesmo vigor que os brotos formados na presença de das concentrações de 30 e 45 mM de nitrogênio no entanto, a taxa de multiplicação foi menor. A concentração de 7,5 mM apresentou praticamente o mesmo número de brotos que a concentração de 15 mM, mas os brotos apresentaram de 0,2 a 0,5cm de comprimento e apenas indícios de folhas.

Quanto à formação de matéria seca na presença de BAP, verificou-se que não houve muita diferença entre as concentrações de 7,5 mM, 15 mM, 30 mM e 45 mM. Já concentração de 60 mM diferiu das demais, apresentando uma menor formação de matéria seca. Além disto, na presença de BAP as concentrações de 45 mM e 60 mM apresentaram um maior número de explantes necrosados, o que influenciou no peso da matéria seca. Desta forma, constatou-se que na presença de BAP, o efeito das concentrações de nitrogênio foi melhor quando se utilizou até 30 mM.

Na ausência de BAP, verificou-se um maior peso de matéria seca para todas as concentrações de nitrogênio, entretanto quase não ocorreu a formação de brotos. Para as concentrações de 7,5 mM, 15 mM e 60 mM a maior parte dos explantes se mostrou intumescida mas não emitiram brotos. Dentre os brotos formados, os que se desenvolveram na presença de 30 mM e 45 mM mostraram-se bastante vigorosos. Já os brotos formados na presença das demais concentrações de nitrogênio chegaram a apresentar apenas indícios da formação de folhas, e tamanho reduzido.

Desta forma, o acréscimo de 2 mg/ L BAP quando se considera conjuntamente as duas variáveis analisadas, mostrou efeito positivo na presença de todas as dosagens de nitrogênio, exceto para concentração de 0 mM. O tratamento contendo de 30 mM de nitrogênio associada a aplicação de 2 mg/L de BAP apresentou as melhores respostas considerando-se também de forma conjunta as duas variáveis analisadas.

LITERATURA CITADA

- AMMIRATO, P.V. Embryogenesis. In: EVANS, D.A; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V.; YAMADA (c/eds.) *Handbook of plant cell culture*. New York: Mcmillan publishing, 1985. v.1, p.83-123.
- SATO, A. Y. *Propagação de gérbera de vaso através da cultura de tecidos*. Lavras: UFLA, 1994. 95p.(Dissertação).
- SOUZA,M.P.; MATOS, M.E.O.; MATOS, F.J.A. *Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras*. Fortaleza: EUFC, 1991. 416p.