

EFEITO DO ÁCIDO GIBERÉLICO NO ALONGAMENTO DE BROTOS DE UNHA-DE-GATO (*U. tomentosa* e *U. guianensis*) CULTIVADOS *IN VITRO*

Renata Beltrão Teixeira¹; Laysa da Silva Miguéis²; Janaina Medeiros Vasconcelos³; Paulo Cesar Poeta Fermino Junior⁴; Andréa Raposo⁵

¹Analista do Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular - Embrapa Acre, e-mail: beltrao@cpafac.embrapa.br;

²Estudante do Curso de Engenharia Florestal da UFAC e-mail laxinhamigueis@hotmail.com;

³Estudante do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário do Norte – UNINORTE e-mail janamv_88@hotmail.com;

⁴Universidade Federal do Acre, Centro de Ciências Biológicas e da Natureza, e-mail: poetabio@hotmail.com

⁵Pesquisadora do Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular - Embrapa Acre, e-mail: andrea@cpafac.embrapa.br;

Resumo

Originadas da Amazônia brasileira e países da América Central e do Sul, *Uncaria guianensis* e *Uncaria tomentosa*, conhecidas popularmente como unha de gato, apresentam grande valor na área medicinal devido a suas propriedades anti-inflamatória e imunoestimulante. As giberelinas são reguladores vegetais que têm apresentado resultados favoráveis no aumento do crescimento em várias espécies vegetais. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do ácido giberélico (AG₃) no alongamento *in vitro* destas espécies. Brotos *Uncaria guianensis* e *Uncaria tomentosa* oriundos de germinação *in vitro* foram inoculados em meios de cultura MS 50% e WPM 100% para *Uncaria tomentosa* e *U. guianensis*, respectivamente, suplementados com sacarose (30 g.L⁻¹) e com diferentes concentrações AG₃ (0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg.L⁻¹) e solidificados com Agar (6 g.L⁻¹). As culturas foram mantidas a temperatura de 25 ± 2 °C, com intensidade luminosa de 38 μmol.m⁻².s⁻¹ e fotoperíodo de 16 h de luz. O experimento foi conduzido no Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular da Embrapa Acre. Após 30 dias de cultivo, foram avaliados comprimento médio do caule, número médio de entre nós e número médio de folhas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 5 repetições por tratamento e 5 explantes por repetição. Com base nos resultados, o uso de AG₃ favoreceu o alongamento das brotações e, conseqüentemente, o aumento da taxa de multiplicação *in vitro* durante a micropropagação.

Palavras-chave: planta medicinal; AG₃; alongamento *in vitro*

Abstract

Originated from the Brazilian Amazon and from other countries in Central and South America, *Uncaria guianensis* and *Uncaria tomentosa*, commonly known as cat's claw, have great medicinal value due to its anti-inflammatory and immunostimulant properties. Gibberellins are plant growth regulators that have shown favorable results for increased growth in several plant species. The objective of this work was to evaluate the effect of gibberellic acid (GA₃) on *in vitro* elongation of these species. Sprouts of *Uncaria guianensis* and *Uncaria tomentosa* derived from *in vitro* germination were inoculated in WPM 100% and MS 50%, respectively, which was supplemented with sucrose (30 g.L⁻¹) and GA₃ at different concentrations (0,0; 0,5; 1,0; 2,0 and 4,0 mg.L⁻¹) and solidified with agar (6 g.L⁻¹). Cultures were maintained at a temperature of 25 ± 2° C with a light intensity of 38 μmol.m⁻².s⁻¹ and a photoperiod of 16 hours of light. The experiment was conducted at the Morphogenesis and Molecular Biology Laboratory of Embrapa Acre. After 30 days of culture, average length of stem, number of internodes, and average number of leaves were assessed. The experimental design was completely randomized with five replicates per treatment and five explants per replicate. Results show that the use of GA₃ promoted elongation of shoots and, thus, an increased rate of proliferation during *in vitro* micropropagation.

Keywords: medicinal plant; GA₃; elongation *in vitro*

Introdução

Uncaria guianensis e *U. tomentosa* são espécies conhecidas popularmente como unha de gato, originadas da Amazônia brasileira e de países da América Central e do Sul e apresentam grande valor na área medicinal devido a suas propriedades anti-inflamatórias e imunestimulantes. Em decorrência de sua importância comprovada para usos medicinais, a conservação dessas espécies, nos últimos anos, está sendo ameaçada em consequência de coletas indiscriminadas e/ou pelos desmatamentos realizados em áreas de sua ocorrência natural.

A micropropagação de plantas medicinais tem-se difundindo nos últimos anos. Dentre os principais benefícios citam-se a possibilidade de aumento rápido do número de indivíduos geneticamente idênticos, a partir de plantas selecionadas, e a produção de mudas durante todo o ano, mesmo em regiões em que a planta não apresenta condições para a reprodução sexuada (PEREIRA e LOPES, 2006).

O principal problema na utilização da unha de gato é a heterogeneidade das propriedades químicas que podem ser encontradas no mercado, levando-se em conta que o abastecimento provém de áreas naturais. A tecnologia de clonagem *in vitro*, apoiada por um trabalho de seleção de características desejáveis poderá contribuir para a obtenção de plantas com qualidade garantida, substituindo métodos convencionais de propagação (OBREGÓN VIICHES, 1997).

Para a micropropagação em plantas, duas estratégias têm sido utilizadas: a regeneração de calos e a multiplicação de brotos. A regeneração de calos resulta em alta porcentagem de variação somaclonal, sendo questionável para a multiplicação clonal em larga escala. E, por outro lado, a multiplicação de broto, um método que pode ser utilizado na propagação clonal de diversas espécies (EINSET, 1986).

Entre os vários reguladores vegetais, as giberelinas têm apresentado resultados favoráveis no aumento do crescimento em várias espécies vegetais. Segundo Dagnino (1991), o alongamento dos explantes é uma das etapas críticas no desenvolvimento dos protocolos para regeneração *in vitro*. Para estimular o alongamento e acelerar o desenvolvimento dos explantes, pode ser adicionado ao meio de cultura AG₃.

Deste modo, objetivou-se no presente estudo, avaliar o efeito de diferentes concentrações de giberelinas no alongamento de brotos de unha de gato *Uncaria guianensis* e *Uncaria tomentosa* cultivados *in vitro*.

Material e Métodos

Segmentos nodais de plântulas de *U. tomentosa* e *U. guianensis* germinadas *in vitro* foram transferidos para meios de cultura de multiplicação MS (elaborado por Murashige & Skoog, 1962), suplementados com sacarose (30 g.L⁻¹), 6-benzilaminopurina (BAP) (4 mg.L⁻¹), ácido giberélico (AG₃) (4 mg.L⁻¹) e solidificado com Agar (6 g.L⁻¹). Após 30 dias, ocorreu a transferência do material para meio de alongamento MS (elaborado por Murashige & Skoog, 1962), suplementado com sacarose (30 g.L⁻¹), com diferentes concentrações de ácido giberélico (AG₃) (0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 mg.L⁻¹) e solidificado com Agar (6 g.L⁻¹). O pH foi ajustado a 5,8.

Após os meios de cultura serem distribuídos em frascos, estes foram fechados com tampa de polipropileno e autoclavados por 18 minutos a 1,1 Kg/cm², em temperatura de 121 °C. As culturas foram mantidas em sala de crescimento à temperatura controlada de 25±2⁰C, dispondo de lâmpadas fluorescentes Philips TDL (38 µmol.m⁻².s⁻¹), expostas ao fotoperíodo de 16 horas de luz. As avaliações foram realizadas após 30 dias de cultivo.

As variáveis analisadas foram comprimento do caule por explantes; número de entrenós por explante e número de folhas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 5 repetições e 5 explantes por parcela. Para análise estatística dos experimentos, utilizou-se o programa Sisvar (FERREIRA, 2002).

Resultados e Discussão

As Figuras 1 e 2 apresentam o efeito do AG₃ sobre o comprimento do caule, o número de entrenós e o número de folhas, para *U. guianensis* e *U. tomentosa*, respectivamente. Conforme apresentado na Figura 1, espécie *U. guianensis*, para a variável ‘comprimento do caule’, foi observada uma tendência de

reposta linear crescente com o aumento da concentração utilizada, ou seja, a melhor resposta ocorreu para a maior concentração de AG₃ testada (1,38 cm em 4 mg.L⁻¹ de AG₃). Para a variável ‘número médio de entrenós’, a presença ou ausência de GA₃ não exerceu efeito nesta característica. Esses resultados estão de acordo com a literatura, em que um dos efeitos mais notáveis da giberelina é a promoção do alongamento do caule de plantas intactas, sem que haja aumento do número de entrenós (ALMEIDA & PEREIRA, 1996; AURAS, 1997). Para a variável ‘número de folhas’, verificou-se diferença significativa, confirmada pelo uso de contrastes ortogonais, indicando que o controle apresentou ‘número de folhas’ maior que os tratamentos utilizando AG₃, uma vez que para esses sistemas in vitro, consideram-se altos valores de R² compreendidos entre 0,5 a 0,9 (COMPTON, 1994).

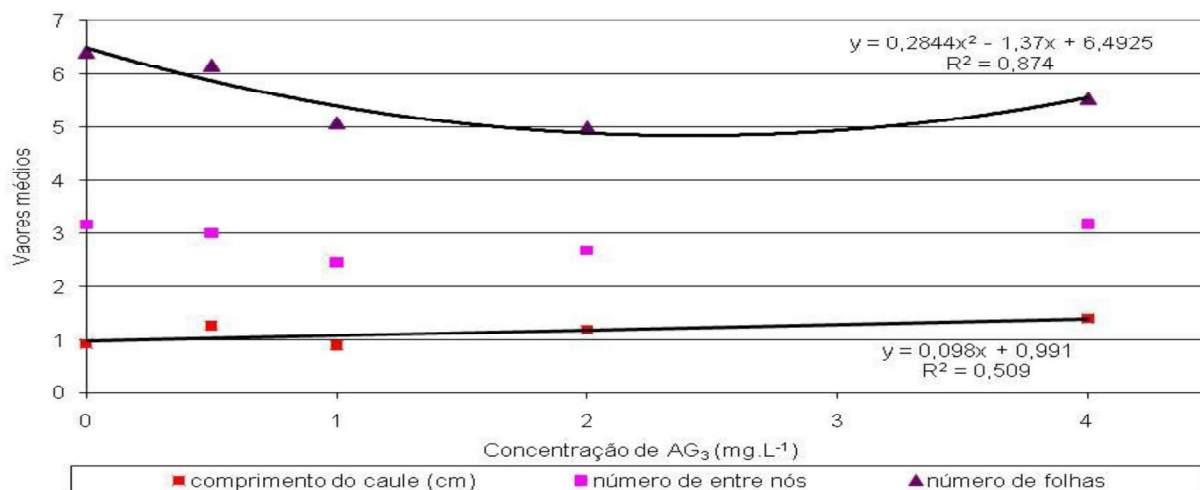


Figura1. Análise de regressão da influência das concentrações de ácido giberélico (AG₃) no alongamento in vitro de brotos de *Uncaria guianensis*.

Ao analisar os dados gerados para a espécie *U. tomentosa* (Figura 2), observou-se que os diferentes tratamentos contribuíram positivamente para o alongamento celular in vitro dos brotos desta espécie, uma vez que foi observada uma tendência de reposta linear crescente com o aumento da concentração utilizada para as variáveis ‘comprimento médio do caule’ e ‘número médio de entre nós’. Para a variável ‘número de folhas’ não ocorreu diferença estatística significativa em relação às concentrações de AG₃ utilizadas. Segundo Cid (2005), o fato de que o efeito dos hormônios vegetais sobre o crescimento depende da concentração hormonal tem sido questionado, devido à frequência com que não é vista uma correlação entre a concentração do hormônio no tecido e a resposta.

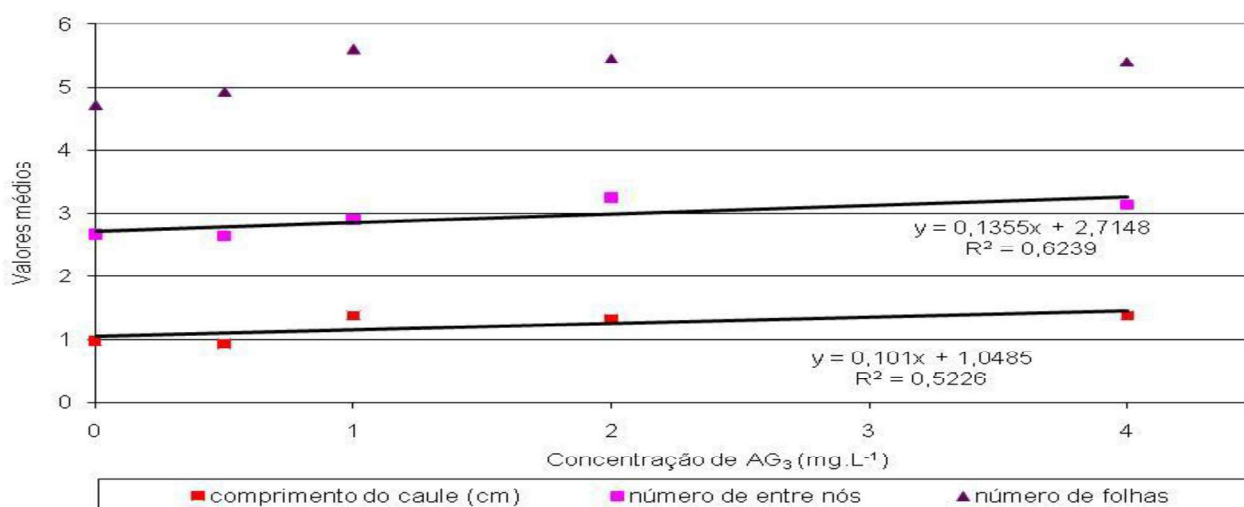


Figura 2. Análise de regressão da influência das concentrações de ácido giberélico (AG₃) no alongamento in vitro de brotos de *Uncaria tomentosa*.

Vários autores relatam que a utilização do AG₃ promove alongamento das brotações. George (1996) afirma que o efeito do AG₃ na proliferação de brotações varia conforme a interação com outros reguladores de crescimento, dependendo da espécie que está sendo micropropagada. Trewavas (1982) argumenta que a resposta do tecido se deve à sensibilidade do mesmo ao hormônio, o qual não só depende do genótipo como também varia com o tipo de tecido, idade, estado de desenvolvimento da planta, condições fisiológicas da célula alvo e diversos fatores ambientais (BRASFORD E TREWARAS, 1994 *apud* CID, 2005). Diante dos resultados apresentados, *Uncaria tomentosa* e *U. guianensis* demonstraram ser sensíveis ao AG₃, uma vez que a sua presença favoreceu o alongamento das brotações.

Conclusões

O uso de AG₃ favoreceu o alongamento das brotações e, conseqüentemente, o aumento da taxa de multiplicação *in vitro* durante a micropropagação.

Agradecimentos

Ao CNPQ pelo apoio financeiro.

Referências Bibliográficas

ALMEIDA, J. A. S.; PEREIRA, M. F. D. A. Efeito de GA₃ e paclobutrazol no desenvolvimento vegetativo do girassol. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 9, n. 1, p. 55-60, jan./abr. 1996.

AURAS, N. E. **Efeitos do paclobutrazol sobre morfologia e anatomia foliar, crescimento de parte aérea, distribuição de biomassa e trocas gasosas em girassol**. 1997. 88 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.

CID, L. P. B., **Hormônios vegetais em plantas superiores** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. 188p.

COMPTON, M. Statistical methods suitable for analysis of plant tissue culture data. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, 37: 217-242. 1994.

EINSET, J. W. A practical guide to woody plant micropropagation. **Arnoldia**, Jamaica Plain, v. 46, p. 36-44, 1986.

FERREIRA, D. F. **SISVAR Sistemas de análises de variância para dados balanceados**: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos. Versão 4.3. Lavras: UFLA, 2002.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. v. 1, p. 183-260.

OBREGÓN VILCHES, L. **Uña de gato. Género *Uncaria*. Estudios Botánicos, químicos y farmacológicos de *Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis***. Lima: Instituto de Fitoterapia Americano; 1996.

PEREIRA, R.C.A.; LOPES, J.V.A. **Aspectos Botânicos, Etnobotânicos, Agronômicos e Fitoquímicos de Unha-de-Gato**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006. 34p. (Embrapa Agroindústria Tropical, Documentos 105).

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformações genéticas de plantas**. Brasília: EMBRAPASPI/ EMBRAPA-CNPH, 1998. p. 87-132.

TREWAVAS, A. Growth substance sensitivity: the limiting factor in plant development. **Physiologia Platarum**, v. 55, p. 60-72, 1982.