

Efeito de reguladores de crescimento no cultivo *in vitro* de segmentos nodais de moringa

Caroline de Araújo Machado¹; Karla Cristina Santos Freire¹; Lucas Fonseca Menezes de Oliveira¹; Zilná Brito de Resende Quirino¹; Ana Veruska Cruz da Silva²; Ana da Silva Léo²

¹ Universidade Federal de Sergipe, Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos, Av. Marechal Rondon, s/n Jardim Rosa Elze, São Cristóvão, Sergipe, Brasil, CEP 49100-000. E-mail: caroline_machado866@hotmail.com; kktinna@hotmail.com ; lucaspinheiro@hotmail.com; zilna_br@hotmail.com

² Embrapa Tabuleiros Costeiros, Caixa Postal 44, Aracaju, Sergipe, Brasil, CEP 49.025-040. E-mail: analedo@cpatc.embrapa.br; anaveruska@cpatc.embrapa.br

Resumo: A moringa (*Moringa oleifera* Lam.) é uma árvore da família Moringaceae, nativa do Norte da Índia, destacando-se pelo uso intensivo das propriedades químicas de suas sementes. Esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de reguladores e crescimento *in vitro* na oxidação, formação de calo, indução de brotações adventícias e rizogênese em segmentos nodais de moringa. Segmentos nodais obtidos de plântulas germinadas *in vitro* foram transferidas para meio MS com diferentes combinações de AIB (0,05 e 0,1 mg L⁻¹) e BAP (0,05 e 0,1 mg L⁻¹). O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial com 2 (concentrações de AIB) x 2 (concentrações de BAP) com nove repetições. Cada parcela foi constituída de um frasco contendo dois segmentos nodais. Foram avaliadas aos 30 dias a porcentagem de segmentos nodais oxidados e com calos e o número de brotações adventícias/segmento nodal e porcentagem de brotações adventícias com raiz. A combinação de 0,05 mg L⁻¹ de AIB e 0,05 mg L⁻¹ de BAP foi a que apresentou alta taxa de explantes com calo (100%) apesar de não diferir estatisticamente dos demais tratamentos. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para a indução de brotações adventícias/segmento nodal que variou de 1,58 a 1,78. A presença de 0,05 mg L⁻¹ AIB e 0,05 mg L⁻¹ BAP promoveu a indução de raiz em 22,22% dos explantes, sendo a rizogênese observada somente nesse tratamento.

Palavras chave: Moringaceae, *Moringa oleifera* Lam., micropropagação, cultura de tecidos, calogênese.

Effect of growth regulators on *in vitro* culture of moringa nodal segments

Abstract: The moringa (*Moringa oleifera* Lam.) is a tree of the Moringaceae family, native of northern India, and is a multi-purpose tree with most of its parts being useful for a number of applications. This work was carried out to establish an effective methodology for *in vitro* sexual and asexual propagation of *Moringa oleifera* Lam. Nodal segments obtained from aseptic seedlings *in vitro* that were inoculated on MS media with different combinations of BAP (0.05 and 0.1 mg L⁻¹) and IBA (0.05 and 0.1 mg L⁻¹). The design was completely randomized factorial with 2 (IBA concentrations) x 2 (BAP concentrations) with nine replicates. Each plot consisted of a flask containing two nodal segments. The percentage of oxidized nodal segments and calluses and number of shoots / nodal segment and percentage of shoots with roots, were evaluated at 30 days. The combination of 0.05 mg L⁻¹ IBA and 0.05 mg L⁻¹ BAP showed the highest rate of explants with callus (100%) although not being statistically different from the other treatments. There was no significant difference between treatments for the induction of adventitious shoots / nodal segments that varied from 1.58 to 1.78. The presence of 0.05 mg L⁻¹ IBA and 0.05 mg L⁻¹ BAP promoted the induction of root in 22.22% of the explants; rooting observed only in the latter treatment.

Key words: Moringaceae, *Moringa oleifera* Lam., micropropagation, tissue culture, callogenesis.

A *Moringa oleifera* Lam. é uma planta da família Moringaceae, do gênero *Moringa*, conhecida popularmente por lírio branco, quiabo-de-quina, acácia-branca, árvore-rabanete-de-cavalo, cedro e moringueiro (Rangel, 2003).

Considerada uma planta tropical, nativa da Índia foi introduzida no Brasil por volta de 1950. Cultivada na África, Ásia, América Latina e em quase todos os países de clima tropical. No Brasil é encontrada em maior número na região

Nordeste, principalmente nos estados do Maranhão, Piauí e Ceará (Cysne, 2006). No país há um esforço no sentido de difundi-la como hortaliça rica em vitamina A (Amaya et al., 1992; Silva e Kerr, 1999), pois as suas folhas se destacam entre as olerícolas consagradas como brócolis, cenoura, couve, espinafre e alface.

A moringa é uma planta de importância econômica significativa com diversas utilidades na indústria e na medicina (Makkar e Becker, 1997), no qual é utilizada para muitos propósitos, onde a maioria de suas partes é útil para várias aplicações, sendo referida como “árvore milagrosa” (Fuglie, 1999). As sementes contêm óleo de excelente qualidade podendo ser usado para cozinhar, confeccionar sabão, na indústria de cosméticos, farmacêutica e no tratamento de água por floculação e sedimentação, visto que é capaz de eliminar a turvação, micropartículas, fungos e bactérias substituindo o sulfato de alumínio. As frutas, sementes, folhas e flores são consumidas como legumes nutritivos em alguns países (Chawla et al., 1988; Gerdes, 1994).

As sementes desta planta e de outras espécies do mesmo gênero apresentam polissacarídeos com forte poder aglutinante, o que permite o uso das sementes pulverizadas no tratamento da água por floculação e sedimentação (Jahn et al., 1986). Esta propriedade das sementes caracteriza a moringa como um cultivo viável até mesmo para o mercado internacional (Rangel, 2003).

Nas zonas rurais do Nordeste brasileiro a utilização das sementes de moringa no tratamento d'água para o consumo humano tem sido prática freqüente, dada a escassez de água potável para a população rural nessa região (Gerdes, 1997).

As sementes também contêm um princípio dotado de atividade antimicrobiana, a pterigospermina, bem como os glicosídeos moringina, 4-(α -L-ramnosilori)-isotiocianato de benzila e 4-(α -L-ramnosilori)-fenil-acetonitrila. Estes componentes antimicrobianos agem principalmente contra *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium phei*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella* e *Streptococcus*, o que justifica seu emprego na preparação de pomada antibiótica (Rangel, 2003).

Recentemente pesquisadores da Universidade Federal de Pernambuco descobriram que a semente de moringa pode ser usada para combater as larvas do mosquito

Aedes aegypti, transmissor da dengue e da febre amarela. Segundo o estudo, uma das proteínas contidas nas sementes, a lectina, impede o processo de digestão da larva, provocando sua morte por desnutrição (Agência Folha, 2008).

Segundo Cysne (2006), a planta possui um rápido desenvolvimento em condições favoráveis, atingindo uma altura de até 4 metros em um ano, produzindo flores e frutos nesse período e na fase adulta a altura varia de 10 a 12 metros de comprimento. A moringa é uma planta alógama que se propaga por sementes e estacas, mesmo em solos pobres. Não necessita muito cuidado e sobrevive a longos períodos de seca.

Na literatura consultada os trabalhos publicados com micropropagação de moringa são recentes e em pequeno número (Stephenson e Fahye, 2004; Islam et al., 2005; Cysne, 2006; Hong-Seng e Qiang, 2008; Steinitz et al., 2009; Marfori, 2010).

Em moringa quando foram comparados o meio MS e o meio básico WPM em relação à qualidade da parte aérea, o meio com 50% dos sais do meio MS mostrou ser mais eficiente sobre o número de partes produzidas (Stephenson e Fahye, 2004). Os mesmos autores obtiveram de 3,6 a 4,7 gemas/semente imatura utilizando meio MS suplementado com 1 mg L⁻¹ de GA₃ e BAP.

A propagação em larga escala de *M. oleifera* por cultura de tecidos é viável utilizando-se vários métodos sendo possível regenerar plantas a partir de segmento nodal. A concentração de 1,0 mg L⁻¹ BAP foi eficaz na indução e na proliferação de brotos (Islam et al., 2005).

Em estudos conduzidos por Cysne (2006) com micropropagação de ápices de moringa inoculados em meio MS com 0,05 mg L⁻¹ AIB proporcionaram o desenvolvimento de brotações com 6,4 cm de altura e uma taxa de multiplicação de 8,9 gemas para cada ápice caulinar. No primeiro subcultivo aos 28 dias, obtiveram a formação de brotações com 3,5 cm de altura e uma taxa de multiplicação de 5,1 gemas/ápice caulinar. O uso de nitrato de prata a 3 mg L⁻¹, pode aumentar o tempo de manutenção de brotações adventícias de moringa *in vitro* sem sinais de senescência.

Esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de reguladores e crescimento *in vitro* na formação de calo e indução de brotações adventícias em segmentos nodais de moringa.

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Tabuleiros Costeiros, em Aracaju, Sergipe.

Segmentos nodais foram excisados de plântulas assépticas obtidas a partir da germinação *in vitro* de sementes de moringa e inoculados em meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962), com 3% de sacarose, 0,6% de agar suplementados com diferentes combinações de ácido indol butírico AIB (0,05 e 0,1 mg L⁻¹) e 6-benzilaminopurina- BAP (0,05 e 0,1 mg L⁻¹).

O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial com 2 (concentrações de AIB) x 2 (concentrações de BAP) com nove repetições. Cada parcela foi constituída de um frasco contendo dois segmentos nodais. O pH foi ajustado para 5,8 e todos os tratamentos submetidos à esterilização em autoclave a 120°C durante 15 minutos. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura variando de 25 ± 2° C, umidade relativa do ar média em torno de 70% e fotoperíodo de 12 horas de luz branca fria (52 µmol m⁻² s⁻¹ de irradiância).

Foram avaliadas aos 30 dias a porcentagem de segmentos nodais oxidados e

com calos e o número de brotações adventícias/segmento nodal e porcentagem de brotações adventícias com raiz. As médias das variáveis foram submetidas à análise de variância e comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade no programa estatístico Sisvar (Ferreira et al., 2000).

A combinação de 0,05 mg L⁻¹ AIB e 0,05 mg L⁻¹ BAP proporcionou calogênese em 100% dos explantes, não diferindo estatisticamente dos demais tratamentos (Tabela 1). Cysne (2006) observou a indução de calos em ápices caulinares de plantas adultas moringa em meio WPM na presença de 1,27 mg L⁻¹ BAP.

Não houve diferença significativa entre os tratamentos para a indução de brotações adventícias/segmento nodal que variou de 1,58 a 1,78 (Tabela 2). Marfori (2010) obteve a proliferação de brotações adventícias a partir de segmentos nodais de plântulas *in vitro* de moringa em meio MS apenas na presença de 0,5 mg L⁻¹ BAP, obtendo maiores médias em torno de 4,6 brotações/segmento nodal.

Tabela 1 - Valores médios das porcentagens de oxidação e calogênese em segmentos nodais de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) inoculados em meio MS suplementado com diferentes concentrações de BAP e AIB.

% de oxidação		
BAP (mg L ⁻¹)	AIB (mg L ⁻¹)	
	0,05	0,1
0,05	11,11aA	22,22aA
0,1	44,44aA	33,33aA
% segmentos nodais com calo		
BAP (mg.L ⁻¹)	AIB (mg.L ⁻¹)	
	0,05	0,1
0,05	100,00aA	66,67aA
0,1	88,89aA	77,78aA

Médias na linha seguidas pela mesma letra minúscula na linha ou maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2 - Valores médios de número de brotações/segmento nodal de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) inoculados em meio MS suplementado com diferentes concentrações de BAP e AIB.

Número de brotações adventícias/segmento nodal		
BAP (mg L ⁻¹)	AIB (mg L ⁻¹)	
	0,05	0,1
0,05	1,67aA	1,78aA
0,1	1,56aA	1,56aA

Médias na linha seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em estudos conduzidos por Islam et al. (2005) observou-se que na presença isolada de BAP (1,0 e 1,5 mg L⁻¹) em meio MS houve uma grande número de brotações adventícias a partir de segmentos caulinares. Cysne (2006) também obteve bons resultados em meio MS na presença 0,25 mg L⁻¹ BAP apresentando maior crescimento em altura e maior número de gemas em dois subcultivos.

A presença de 0,05 mg L⁻¹ AIB e 0,05 mg L⁻¹ BAP promoveu a indução de raiz em 22,22% dos explantes, sendo a rizogênese observada somente nesse tratamento (Figura 1B). Hong-feng e Qiang (2008) obtiveram a indução de brotações adventícias e de raízes de moringa em meio MS e ½ MS na presença de 0,4 mg L⁻¹ BAP e 0,2 mg L⁻¹ ANA. Steinitz et al. (2009) observaram o enraizamento de brotações de moringa em meio MS com metade da concentração de sais na ausência de reguladores de crescimento.

A variação dos resultados obtidos pelos autores pode ser atribuída às diferenças na planta matriz e tipo de explantes utilizados no estabelecimento *in vitro* das culturas.

Diante dos resultados observados, conclui-se que a combinação 0,05 mg.L⁻¹ AIB e 0,05 mg.L⁻¹ BAP induz baixa porcentagem de oxidação (11,11%) e maior porcentagem de calo (100%) e que a presença dessa combinação de reguladores no meio de cultura MS promove a rizogênese em 22,22% dos explantes.

Estudos adicionais sobre a avaliação do efeito da organogênese em diferentes concentrações de reguladores de crescimento e a adição de antioxidantes no meio de cultura deverão ser conduzidos para indução de um sistema eficiente *in vitro*, além da determinação do intervalo de subcultivos, rendimento, avaliação do vigor das culturas e protocolos de enraizamento *in vitro* e aclimatização das mudas.



Figura 1 – A - Desenvolvimento de brotações adventícias de moringa em meio MS na presença de AIB e BAP; B - Rizogênese *in vitro* em brotações adventícias regeneradas por organogênese em segmentos nodais de moringa na presença de 0,05 mg L⁻¹ AIB e 0,05 mg L⁻¹ BAP (Fotos: Ana Léo).

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq e ao Sergipe Parque Tecnológico pela concessão de bolsas de iniciação científica.

Referências

- AGÊNCIA FOLHA. **Sementes de moringa pode matar mosquito.** Disponível em: <<<http://www1.folha.uol.com.br/fsp/cotidian/ff2604200814.htm>>>. Acesso em: 12 maio, 2008.
- AMAYA, D. R. et al. Moringa hortaliça arbórea rica em beta-caroteno. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 10, n. 2, p. 126, 1992.
- CHAWLA, S.; SAXENA, A.; SESHADRI, S. *In vitro* availability of iron various green leafy vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, England, v. 46, n. 1, p. 125-127, 1988.
- CYSNE, J. R. B. **Propagação in vitro de Moringa oleifera L.** 2006. 81f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4. 0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p.255-258.
- FUGLIE, L. J. **The miracle tree: Moringa oleifera.** natural nutrition for the tropics. Dakar: Church World Service, 1999. 66p.
- GERDES, G. **O uso da sementes da árvore moringa para o tratamento da água turva.** Fortaleza: ESPLAR – Centro de Pesquisa e Assessoria, 1994.13p.
- GERDES, G. **Como limpar e tratar água suja com sementes da moringa.** Fortaleza: ESPLAR – Centro de Pesquisa e Assessoria, 1997. 18 p. (Boletim técnico).
- HONG-FENG, W.; QIANG, W. Establishment of regeneration system in vitro for *Moringa oleifera* with stem. **Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology**, Zhejiang, v. 69, n. 5, p.1128 – 1134, 2008.
- ISLAM, L.; IAHAN, H. A. A.; KHATUN, R. In vitro regeneration and multiplication of year – round fruit bearing *Moringa oleifera* L. **Journal of Biological Sciences**, Pakistan, v. 5, n. 2, p. 145-148, 2005.
- JAHN, S. A. A.; MUSNAD, H. A.; BURGSTALLER, H. The tree that purifies water: cultivating, multipurpose Moringaceae in the Sudan. **Unasylva**, Rome, v. 38, p. 23-28, 1986.
- MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Nutrients and antiquality factors in different morphological parts the *Moringa oleifera* tree. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 128, p. 321 – 322, 1997.
- MARFORI, E. C. Clonal micropropagation of *Moringa oleifera* L. **Philipp Agric Scientist**, Los Banos, v. 93, n. 4, p.454-457, 2010.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- RANGEL, M. S. **Moringa oleifera: um purificador natural de água e complemento alimentar para o nordeste do Brasil.** 2003. Disponível em: <<http://www.jardimdeflores.com.br/floresefolhas/A10moringa.htm>>. Acesso em: 07 fev. 2008.
- SILVA, A. R.; KERR, W. E. **Moringa: uma nova hortaliça para o Brasil.** Uberlândia: UFU/DIRIU, 1999. 95 p.
- STEPHENSON, K. K.; FAHYE, J. W. Development of tissue culture methods for tie rescue and propagation of endangered Moringa spp. Germplasm. **Economic Botany**, New York v. 58, p.117-124, 2004.
- STEINITZ, B. et al. Vegetative micro-cloning to sustain biodiversity of threatened Moringa species. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, New York, v. 45, n. 1, p. 65-71, 2009.

Recebido em: 22/02/2009

Aceito em: 26/04/2011