

## **Influência da sacarose no crescimento de calos e nos teores de fenóis e taninos totais em *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville – Fabaceae.\***

Lima, Miller Marani<sup>1</sup>; Castro, Ana Hortência Fonseca<sup>2</sup>; Sóter, Mirelle Oliveira<sup>3</sup>; Paiva, Renato<sup>4</sup>; Alvarenga, Amauri Alves de<sup>5</sup>; Nicioli, Patrícia Matile<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Iniciação Científica (bolsista FAPEMIG), Centro Universitário de Lavras, Curso de Farmácia, R. Padre José Poggel, 506, CEP 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3694-8106, e-mail: [millerlima@yahoo.com.br](mailto:millerlima@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Doutora, Centro Universitário de Lavras, Curso de Farmácia, e-mail: [acastro@ufla.br](mailto:acastro@ufla.br); <sup>3</sup>Graduanda, Centro Universitário de Lavras, Curso de Farmácia, e-mail: [mirellesoter@yahoo.com.br](mailto:mirellesoter@yahoo.com.br); <sup>4</sup>PhD, Universidade Federal de Lavras, Setor de Fisiologia Vegetal, Cx. Postal 37, Cep 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3829-1341, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>5</sup>Doutor, Universidade Federal de Lavras, Setor de Fisiologia Vegetal, e-mail: [amauriaa@ufla.br](mailto:amauriaa@ufla.br); <sup>6</sup>Mestre, Universidade Federal de Lavras, Setor de Fisiologia Vegetal, e-mail: [pmnicioli@yahoo.com.br](mailto:pmnicioli@yahoo.com.br).

### **INTRODUÇÃO**

O barbatimão é uma espécie típica do Cerrado brasileiro, com grande distribuição e importância econômica para o Estado de Minas Gerais, sendo empregado popularmente devido às suas propriedades adstringente e cicatrizante, no combate de amidalite, faringite, hemorróidas, leucorréias, erupções cutâneas, diarreias e como agentes antiinflamatórios (Palazzo-de-Mello et al. 1996, Lima et al., 1998). Estas propriedades terapêuticas estão associadas ao tanino, metabólito secundário de natureza fenólica, presente em altas concentrações na casca desta espécie.

Segundo Almeida et al. (1998), a produção nacional de casca de barbatimão vem decrescendo desde 1988, principalmente no sul de Minas Gerais, devido à exploração indiscriminada pelas indústrias de curtimento do couro. Para preservar a exploração irracional desta espécie devem-se melhorar as técnicas de propagação, encorajar seu cultivo e criar vias alternativas para a produção de tanino, em larga escala, a partir de fontes naturais.

As técnicas de cultura *in vitro* são de grande importância ecológica, pois permitem o desenvolvimento de pesquisas que estabeleçam formas alternativas para a produção de mudas, conservação e melhoramento do material genético, possibilitando a recuperação de plantas em extinção, além de contribuir para o aumento na produção dos princípios ativos vegetais. Segundo Torres e Caldas (1990), a utilização da cultura de calos pode resolver alguns problemas relacionados à utilização de plantas para extração de metabólitos secundários vegetais bioativos.

O presente trabalho teve como objetivo principal avaliar a influência da sacarose no crescimento de calos e nos teores de fenóis e taninos totais em barbatimão.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos, do Centro Universitário de Lavras. As sementes foram coletadas nos meses de agosto a novembro de 2005, em área de formação campestre com fisionomia de Cerrado *sensu stricto*, localizada no município de Ijaci, situado ao sul do Estado de Minas Gerais. Amostras do material vegetal foram coletadas e herborizadas e após identificação foram registradas e depositadas no Herbário ESAL, da Universidade Federal de Lavras, sob o nº 17.227.

Para a germinação *in vitro*, as sementes foram desinfestadas com NaOCl 2% (hipoclorito de sódio comercial), por 10 minutos, lavadas rapidamente em água destilada esterilizada e incisadas parcialmente. A seguir foram inoculadas em meio MS (Murashige e Skoog, 1962) completo, suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, solidificado com agar, na proporção de 7 g L<sup>-1</sup> e o pH ajustado para 5,7 ± 0,1, antes da autoclavagem. Após inoculação, as sementes foram transferidas para sala de crescimento com temperatura de

---

\* Projeto financiado e bolsa de iniciação científica concedida pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

$27 \pm 1$  °C, fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos de  $45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Para a indução de calos, adotou-se a metodologia descrita por Vitor et al. (2005).

Após 45 dias da inoculação, fragmentos de calos frescos, foram inoculados e cultivados por 6 semanas em meio MS completo, suplementado com sacarose nas concentrações: 0, 15, 30, 45 e 60  $\text{g L}^{-1}$ . Cada tratamento foi constituído de 15 repetições, com 4 tubos cada e um explante por tubo. O crescimento dos calos (matéria fresca e seca) e os teores de fenóis e taninos totais foram determinados. Os rendimentos de fenóis totais foram avaliados através do método de Folin-Dennis (AOAC, 1970) e os taninos totais, através do Método de Difusão Radial (Hagerman, 1987). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. Para comparação dos contrastes entre médias dos tratamentos foi utilizado o Teste de Scott & Knott (1974), ao nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da figura 1 verifica-se que calos cultivados em meios suplementados com sacarose apresentaram maiores valores de matéria fresca e seca, quando comparados com aqueles crescidos em meios com ausência de sacarose ( $p < 0,05$ ). Na presença de sacarose, os calos apresentaram os mesmos valores de biomassa fresca e seca, independente dos teores de sacarose no meio de cultivo.

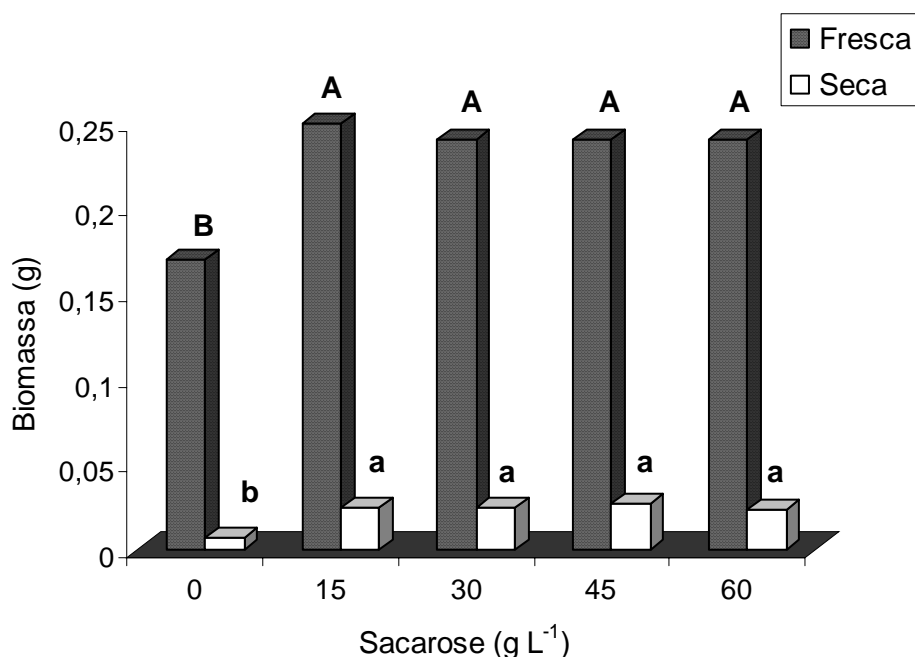


Figura 1: Influência de diferentes concentrações de sacarose na matéria fresca e seca de calos de barbatimão. UNILAVRAS: Lavras, MG. 2007.

Avaliando-se os rendimentos de fenóis totais (figura 2), se verifica que calos cultivados na presença de sacarose, na concentração de  $30 \text{g L}^{-1}$  apresentaram maiores teores de fenóis totais, sendo estes 37% superiores àqueles obtidos para calos cultivados em meios suplementados com maiores concentrações de sacarose ( $p < 0,05$ ). Comparando-se com o explante inicial, percebe-se que os calos cultivados em concentrações intermediárias de sacarose apresentaram teores de fenóis 5 vezes maiores que o explante inicial. Calos crescidos na ausência ou na presença de baixas concentrações de sacarose no meio de cultivo não apresentaram fenóis totais.

Não se detectou a presença de taninos totais nos calos, independente do tratamento empregado.

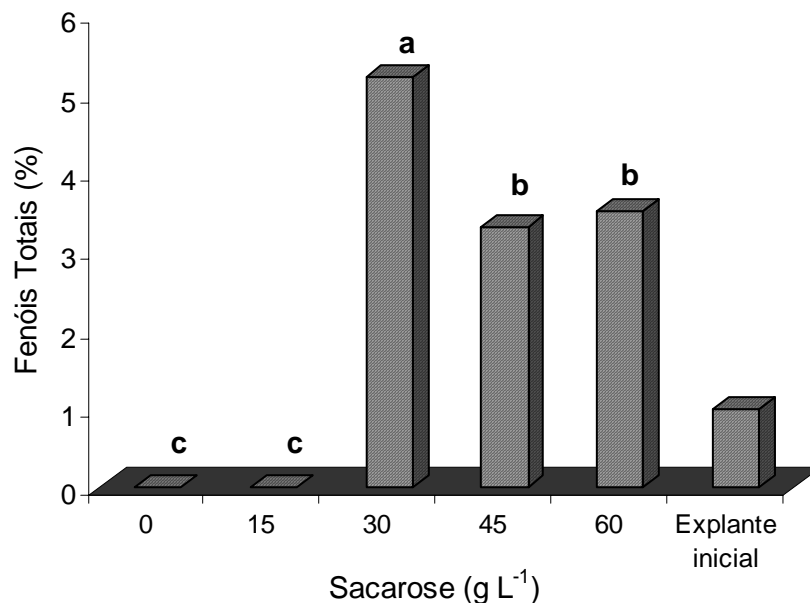


Figura 2: Influência de diferentes concentrações de sacarose nos teores de fenóis totais em calos de barbatimão. UNILAVRAS: Lavras, MG. 2007.

Os resultados obtidos foram importantes do ponto de vista fisiológico e metabólico, pois revelaram que a produção de matéria seca nos calos depende da presença de sacarose no meio de cultivo, em pequenas ou altas concentrações, entretanto, maiores teores de fenóis totais foram produzidos em meios com concentrações intermediárias dessa fonte de carbono. Segundo Koricheva et al. (1998), os compostos fenólicos são considerados metabólitos secundários, originados diretamente do metabolismo do carbono, entretanto, para Lavola et al. (2000), a biossíntese dessas substâncias está diretamente relacionada aos processos de crescimento e diferenciação celular, regulados pela disponibilidade de recursos no meio, que podem competir com a alocação de carbono para o metabolismo secundário.

## CONCLUSÃO

Este estudo indicou que calos cultivados em meios suplementados com 30g L<sup>-1</sup> de sacarose apresentam maiores valores de matéria seca e maiores teores de fenóis totais.

Nas condições estudadas não se detectou a presença de taninos totais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S.P. DE; PROENÇA, C.E.B.; SANO, S.M.; RIBEIRO, J.F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464p.

**ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS**. Official methods of the association of official analytical chemists. 11.ed. Washington, 1970. 1015 p.

HAGERMAN, A. E. Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 13, n.3, p.437-449, Mar. 1987.

KORICHEVA, J.; LARSSON, S.; HAUKIOJA, E.; KEINÄNEN, M. Regulation of woody plant secondary metabolism by resource availability:hypothesis testing by means of meta-analysis. **Oikos**, Copenhagen, v. 83, n. 2, p. 212-226, Nov. 1998.

LAVOLA, A.; TITTO, R. J.; ROSA, T. M. de la; LETTO, T.; APHALO, P. J. Allocation of carbon to growth and secondary metabolites in birch seedlings under UV-B radiation and CO<sub>2</sub> exposure. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 109, n. 3, p. 260-267, July 2000.

LIMA, J.C.S., MARTINS, D.T.O.; SOUZA JÚNIOR, P.T. Experimental evaluation of stem bark *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville for antiinflammatory activity. **Phytotherapy Research**, v. 12, p. 218-220, 1998.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossays with tabacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

PALAZZO-DE-MELO, J.C.; PETEREIT, F.; NAHRSTEDT, A. Flavan-3-ols and prodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. **Phytochemistry**, v. 41, n. 3, p. 807-817, 1996.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, n. 3, p. 507-512, Sept. 1974.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. Editores. Técnicas e aplicações de cultura de tecidos em plantas. Brasília: ABCTP/EMBRAPA\_CNPQ, 1990. P.99-169.

VITOR, S.M.M. et al. **Germinação in vitro e efeito do 2,4-D e BAP na indução de calogênese e nos teores de fenóis e taninos totais em *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville**. 2005. Disponível em:<http://www.fevale.edu.br/seminário/cd/files/pdf/1884.pdf>. Acesso em: 16 maio 2006.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Stryphnodendron adstringens*; Barbatimão; Taninos; Calos; Sacarose.