

Introdução *in vitro* de *Lophantera lactescens* Ducke (Malpighiaceae).

Porto, Bruno Henrique Crespo¹; Abreu, Heber dos Santos²; Deus, Desiane Amaral de³; Duarte, Mariana Silva³, Souza, Kelly Carla Almeida de⁴.

¹Graduando em Agronomia (UFRRJ), CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, fone: (21) 26821128, e-mail: bhcprural@yahoo.com.br; ²Professor do Instituto de Florestas (UFRRJ), CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, fone: (21) 26821128, e-mail: abreu@ufrj.br ³Graduanda em Engenharia Florestal (UFRRJ), CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, fone: (21) 26821128, e-mail: deiseflora@bol.com.br; ⁴Mestre em Ciências Florestais e Ambientais (UFRRJ), CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, fone: (21) 26821128, e-mail: almeida_kc@yahoo.com.br.

INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais vem crescendo a cada ano e as informações sobre o assunto para fins comerciais ainda são escassas (Newall *et al.*, 2002).

Lophantera lactescens Ducke (Malpighiaceae) é uma espécie endêmica da Amazônia brasileira, ocorrendo tanto no interior de mata primária densa como em formações secundárias (Lorenzi, 1992). É utilizada pelos nativos como agente febrífugo sobre a malária, através da ingestão de casca e folhas sobre a forma de infusão. Interessados encontrar um substituto do quinina, Ribeiro e Machado (1946) pesquisaram a espécie e descreveram o isolamento de um alcalóide denominado Lofanterina. Estudos envolvendo a obtenção de constituintes químicos permitiram o isolamento do *nor*-triterpeno codificado como LLD-3, que apresenta ação antiálgica, antitérmica e bloqueadora dos canais de potássio (Abreu *et al.*, 1990).

Embora muitos compostos derivados de plantas medicinais possam ser sintetizados em laboratório, tal síntese é freqüentemente complexa, com rendimentos abaixo do esperado, corroborando assim uma produção economicamente inviável destes metabólitos de interesse (Holton, 1994; Nicolau, 1994). Quando o cultivo convencional é inviável, o uso de técnicas biotecnológicas se constitui uma ferramenta bastante útil para a obtenção de culturas de células *in vitro* e reprodução de explantes com características desejáveis, tais como: resistência a pragas e outras condições de estresse, alta produtividade e elevado rendimento de substâncias ativas de interesse (Zenck, 1998).

As espécies lenhosas apresentam dificuldades para o estabelecimento *in vitro*, principalmente se for utilizado material vegetal proveniente de plantas adultas, pois podem apresentar infestação interna ou externa por microrganismos. Por isso, a utilização de plântulas germinadas *in vitro*, em condições assépticas, torna-se mais vantajosa (Skirvin, 1981). Segundo Corder e Borges Junior (1999), vários fatores podem afetar o vigor germinativo das sementes e promover a formação de plântulas anormais ou sua morte, entre eles a dormência e a presença de microrganismos, sobretudo de fungos e bactérias. Por isso, os métodos de desinfestação devem ser eficazes, para que a plântula sirva de fonte de explante livre de fungos e bactérias.

O presente trabalho teve como objetivo verificar a germinação *in vitro* das sementes de *Lophantera lactescens* Ducke, determinando o melhor tempo de exposição destas ao agente desinfestante.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia da Madeira do Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. As sementes foram coletadas de uma população de plantas do *campus* da UFRRJ.

Para avaliar o efeito dos agentes desinfestantes, as sementes foram submersas ou não em solução de etanol 70% (v/v) por dois minutos. A seguir, foram imersas em solução contendo hipoclorito de sódio a 1,0% (v/v) com três gotas de detergente comercial por 100 mL de solução, durante períodos de tempo de 0, 10, 20, 30 ou 40 minutos. Foram então, em seguida, enxaguadas em água bidesionizada autoclavada.

Tabela 1. Tratamentos utilizados para condição de emergência de plântulas e desinfestação de sementes.

Tratamentos	Álcool (minutos)	Hipoclorito (minutos)
01	0	0
02	0	10
03	0	20
04	0	30
05	0	40
06	2	0
07	2	10
08	2	20
09	2	30
10	2	40

Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 4 (tempo em álcool x tempo em hipoclorito), com seis repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por quinze sementes.

Após a desinfestação as sementes foram inoculadas em meio de cultura composto por sais básicos de MS (Murashige & Skoog, 1962), adicionado de 100 mg.L⁻¹ de mio-inositol e 30 g.L⁻¹ de sacarose. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da adição de 6,0 g.L⁻¹ de ágar. Foram vertidos 30 mL do meio em frascos com capacidade de 250 mL, os quais foram posteriormente fechados e autoclavados a 120° e 1,5 atm por 20 minutos. Logo após a semeadura, os frascos foram transferidos para sala de crescimento e mantidos sob fotoperíodo de 16 horas a 25±2°C até os trinta dias após a semeadura.

As avaliações das contaminações por fungos e bactérias e da germinação foram efetuadas aos trinta dias após a semeadura. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos que proporcionaram as menores médias de contaminação foram aqueles onde as sementes foram desinfestadas com álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1%, durante 30 e 40 minutos de embebição.

Os piores resultados foram obtidos com os tratamentos em que as sementes não receberam a desinfestação com etanol 70%, apresentando as maiores taxas de contaminação.

Os resultados desse estudo estão de acordo com os de Andrade *et al.* (2001), que desinfestaram sementes de *Myracrodouon urundeuva* em álcool 70% por 30 segundos e, seguido de hipoclorito de sódio por 20 minutos, e as lavaram três vezes em água destilada, as quais apresentaram baixos índices de contaminates.

Foi observado, durante o período de germinação, que as sementes contaminadas por fungos e bactérias não foram capazes de germinar. Esse resultado concorda com os de Corder e Borges Júnior (1999) que, ao germinarem sementes de *Acacia mearnsii* em condições in vitro, observaram que a presença de fungos e bactérias nas sementes foi o principal fator da ausência de germinação. Segundo Faiad *et al.* (1997), a maior germinabilidade das sementes desinfestadas comparada a do controle deve-se à eliminação de agentes patogênicos e saprófitos que podem deteriorá-las e ocasionar sua morte.

As maiores porcentagens de germinação das sementes *in vitro* ocorreram no tratamento T8 (59%).

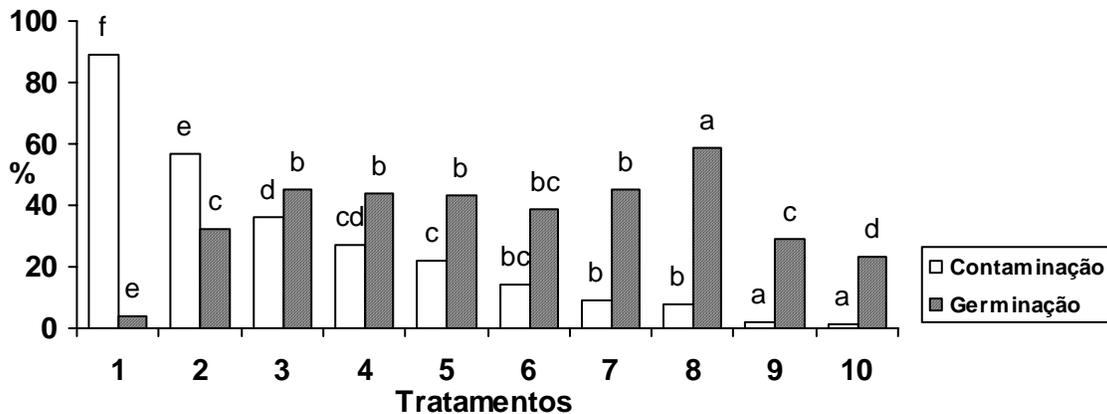


Figura 1. Percentagem de contaminação e germinação de sementes de *Lophanthera lactescens* Ducke em função do agente desinfestante. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

CONCLUSÃO

Nas condições experimentais adotadas, conclui-se que sementes de *Lophanthera lactescens* Ducke podem ser desinfestadas em álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1%, durante 2 e 20 minutos, respectivamente, e, posteriormente, inoculadas em meio de cultura MS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, H. S. *et al.* A nor-triterpenoid from *Lophanthera lactescens*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2257-2261, 1990.
- ANDRADE, M. V. *et al.* Micropropagação da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All). **Ciência e Agrotecnologia**, v.24, n.1, p.174-180, 2000.
- CORDER, M. P. M.; BORGES JUNIOR, N. Desinfestação e quebra de dormência de sementes de *Acacia mearnsii* de Wil. **Ciência Florestal**, v. 9, n. 2, p. 1-7, 1999.
- FAIAD, M. G. R.; Salomão, A. N.; Cunha, R. Efeito do hipoclorito de sódio sobre a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de *Commiphora leptopholoeos* (Mart.) J. B. Gillet. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 1, p. 14-17, 1997.
- HOLTON, R. *et al.* First total synthesis of taxol. 1. Functionalization of the B Ring. **J. Am. Chem. Soc.**, v.116, p.1597-1598, 1994.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992. 352p.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

NEWALL, C. A.; ANDERSON, L.A.; PHILLIPSON, J.D. **Fitoterapia – Plantas Mediciniais: Guia para Profissionais da Saúde**. Ed. Premier. São Paulo, 2002.

NICOLAU, K. C. *et al.* Total synthesis of taxol. **Nature**, v.367, p.630-634, 1994.

RIBEIRO, O.; MACHADO, A. Anais da Associação Química do Brasil. v. 9, 1946.

SANTOS, B. R. *et al.* Indução de calos friáveis em explantes foliares de *Salix* (*Salix humboldtiana* Willd). **Ciência Rural**, v.35, n.3, p.510-514, 2005.

SKIRVIN, R. M. Fruticulture crops. In: CONGER, B. V. **Cloning agricultural plants via *in vitro* techniques**. Boca Raton: CRC Press, 1981. p. 51-139.

ZENK, M. H. *et al.* Taxoids from cell cultures of *Taxus Chinensis*. **Phytochemistry.**, v.49, p.113-125, 1998.

PALAVRAS-CHAVES

Lophantera lactescens Ducke; germinação *in vitro*; desinfestação de sementes.