Indução de calos friáveis em segmentos nodais de Lophantera lactescens Ducke.

Porto, Bruno Henrique Crespo¹; Duarte, Mariana Silva², <u>Deus, Desiane Amaral de²</u>; Souza, Kelly Carla Almeida de³; Abreu, Heber dos Santos⁴.

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

Conduziu-se o presente trabalho com o objetivo de estudar o efeito do 2,4-D na indução de calos friáveis, visando estudos posteriores de prospecção de moléculas bioativas através da cultura de células *in vitro*.

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, onde segmentos nodais de *Lophantera lactescens* Ducke provenientes de plântulas estabelecidas *in vitro* foram utilizados como fontes de explantes.

O meio de cultura utilizado foram os sais e vitaminas do MS (Murashige e Skoog, 1962), adicionado de 100 mg.L⁻¹ de mio-inositol, 30 g.L⁻¹ de sacarose e acrescido de diferentes concentrações de ácido 2,4-diclorofenoxiacético (0,0; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 mg.L⁻¹). O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da adição de 7,0 g.L⁻¹ de ágar. Em seguida, alíquotas de 25 mL do meio foram distribuídas em frascos com capacidade de 250 mL, os quais foram posteriormente fechados e autoclavados a 120° e 1,5 atm por 20 minutos.

Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por um frasco contendo cinco explantes. Os dados das variáveis do efeito do ácido 2,4-diclorofenoxiacético foram analisados por meio de regressão polinomial.

Após a inoculação foram mantidos no escuro, em câmara de crescimento, a 25±2°C. A avaliação foi realizada 60 dias após a inoculação, sendo avaliado o percentual de explantes com calos friáveis e matéria fresca dos mesmos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se comportamento quadrático para o percentual de explantes com calos (Figura 1), podendo-se verificar que aumentos na concentração de ácido 2,4-diclorofenoxiacético até 4,0 mg.L⁻¹ promoveram um aumento crescente na porcentagem de explantes que formaram calos friáveis.

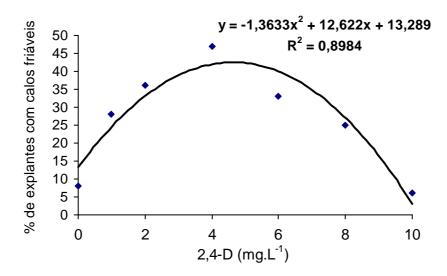


Figura 1. Efeito de diferentes concentrações de 2,4-D na formação de calos friáveis de Lophantera lactescens Ducke.

Comportamento semelhante ao verificado para o número de explantes com formação de calos foi observado para a matéria fresca de calos. Concentrações crescentes até 4,0 mg.L⁻¹ foram claramente benéficas, enquanto concentrações superiores a esta reduziram a matéria fresca dos calos. Comparando-se a concentração de 4,0 mg.L⁻¹ a 10,0 mg.L⁻¹ verificou-se uma redução de aproximadamente 80% (0,59g contra 0,12g na massa fresca de calos).

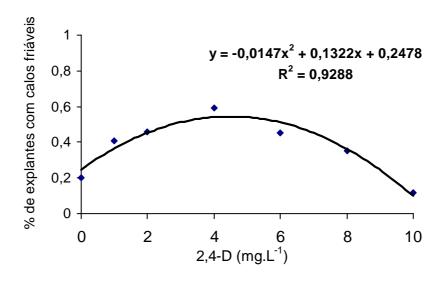


Figura 2. Efeito de diferentes concentrações de 2,4-D na matéria fresca de calos friáveis de Lophantera lactescens Ducke.

A redução da matéria fresca dos calos com a utilização de concentrações elevadas do ácido 2,4-diclorofenoxiacético pode estar relacionada à fitotoxidez causada por este regulador de crescimento. Esse comportamento também foi observado por Santos *et al.* (2005) em calos formados em explantes foliares de salix (*Salyx humboldtiana* Willd) inoculados na presença de concentrações elevadas de ácido 2,4-diclorofenoxiacético.

CONCLUSÃO

Para as condições experimentais adotadas conclui-se que segmentos nodais extraídos de plântulas germinadas *in vitro* e inoculados em meio MS acrescido de 4,0 mg.L⁻¹ ácido 2,4-diclorofenoxiacético podem ser utilizados para indução de calos friáveis de *Lophantera lactescens* Ducke.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, H. S. et al. A *nor*-triterpenoid from *Lophanthera lactescens*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2257-2261, 1990.

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 Medicinais: 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 (*Salyx humboldtiana* Willd). **Ciência Rural**, v.35, n.3, p.510-514, 2005.

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

PALAVRAS-CHAVES

Lophantera lactescens Ducke; metabólitos bioativos; calos friáveis; segmentos nodais.