



PROTOCOLO DE PRODUÇÃO DE MUDAS *IN VITRO* DE *Tabernaemontana catharinensis* DC.

DE LEON, Rogério Marisco¹; SOUZA, Jean Roque Peres¹; GOLLE, Diego Pascoal²;
KOEFEENDER, Jana³; MANFIO, Candida Elisa³; CAMERA, Juliane Nicolodi⁴; KAIPER,
Cristiane^{5 6}

Palavras-Chave: Alongamento. Multiplicação. Cultivo *in vitro*. Cobraína.

INTRODUÇÃO

A espécie *Tabernaemontana catharinensis* pertence à família Apocynaceae, é uma planta encontrada na Argentina, Paraguai, Brasil e Bolívia (PEREIRA *et al.*, 2008). A cobraína pode ser utilizada como planta medicinal, o chá ou a infusão dessa planta é utilizada como antídoto para picadas de cobra, para aliviar dor de dente, e também como um vermífugo (PEREIRA *et al.*, 2005).

A cultura de tecido apresenta vantagens, como: a obtenção de um elevado número de plantas em espaço reduzido e em curto período de tempo, além disso, permite o aceleração de programas de melhoramento e serve como base para outros processos biotecnológicos, como a transformação genética. A utilização de reguladores de crescimento ao meio de cultivo é utilizado para suprir possíveis deficiências endógenas e melhorar as características de cultivo *in vitro* (TORRES *et al.*, 1998), O objetivo deste trabalho foi avaliar a etapa de multiplicação e alongamento *in vitro* de *T. catharinensis*.

MATERIAL E MÉTODOS

1.1 Multiplicação *in vitro* de *T. catharinensis*

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado seguindo

¹ Acadêmicos do curso de Agronomia da Universidade de Cruz Alta.

² Prof. Orientador, Dr., Universidade de Cruz alta. E-mail: dgolle@unicruz.edu.br

³ Prof^a. Dr^a, Universidade de Cruz alta. E-mail: jkoefener@unicruz.edu.br / candidamanfio@gmail.com

⁴ Bolsista DOCFIX-CAPES/FAPERGS, Universidade de Cruz Alta. E-mail:ju_camera@yahoo.com.br

⁵ Bióloga, Esp., Técnica de Laboratório – UNICRUZ. E-mail: ckaiper@unicruz.edu.br E-mail: ckaiper@unicruz.edu.br

⁶ Polo de Inovação Tecnológica do Alto Jacuí, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais “*in vitro*”, Prédio 1, Sala 111, Campus, UNICRUZ, Cruz Alta, RS, Brasil. Cep: 98.020-290.

Apoio: SDECT-RS:Convênio SCIT 48/2013 e Bolsa PIBIC EM CNPq



arranjo bifatorial 3 x 5, sendo os níveis do fator “A” correspondes a diferentes doses de ANA (0, 0,5, 1 μM de ANA) e os níveis do fator “B” corresponderam as diferentes doses de BAP (0, 10, 20,30 e 40 μM de BAP), cada unidade experimental foi representada por um frasco de vidro pequeno com capacidade de 200 ml, contendo 20 mL do meio nutritivo e dois explantes, totalizando 15 tratamentos com 5 repetições. Passados 55 dias de cultivo, foram avaliadas as variáveis: número de brotos, comprimento de broto (cm), formação de calo, enraizamento (%), oxidação fenólica (%) e sobrevivência (%).

1.2 Alongamento *in vitro* de *T. catharinensis*

Este experimento foi conduzido de forma semelhante ao de multiplicação, porém foram comparadas doses de ANA (0, 0,5, 1 μM de ANA) e os níveis do fator “B” corresponderam as diferentes doses de GA₃ (0, 0,5 e 1 μM de BAP). Após 45 dias foram avaliadas as variáveis: número de brotos, comprimento de broto (cm), formação de calo, enraizamento (%), oxidação fenólica (%) e sobrevivência (%).

1.3 Condições de cultivo e análise estatística

Os explantes obtidos para a instalação do experimento foram provenientes de cultivo *in vitro*. O meio de cultura utilizado foi MS 100%, os meios de cultura utilizados foram acrescidos de 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol e 7 g L⁻¹ de ágar. O pH foi ajustado em 5,8 e os meios foram esterilizados a 121°C e 1,5 atm de pressão por 20 minutos. Após a inoculação dos explantes, a qual ocorreu em câmara de fluxo laminar, os frascos foram mantidos em sala de cultivo com temperatura de 25 \pm 3 °C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 30 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, no Laboratório *in vitro* de Multiplicação Vegetal da Universidade de Cruz Alta. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott knott ($\alpha=0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.1 Multiplicação *in vitro* de *T. catharinensis*

A interação entre concentrações de ANA e concentração de BAP não foi significativa. Assim como não foi observado diferença entre os tratamentos testados para as variáveis número de brotos e comprimento do broto (cm). Para enraizamento (%) somente as concentrações de 0 μM de ANA e 0 μM de BAP apresentaram presença de raiz (33%), os demais tratamentos não apresentaram enraizamento (Tabela 1). Segundo Moura et al. (2012) a



utilização de BAP e ANA não foram eficientes no alongamento de gemas axilares de espécie de vinhático.

TABELA 1. Influência de diferentes concentrações de ANA (μM) e BAP (μM) após 55 dias de cultivo de *Tabernaemontana catharinensis* em número de brotos, comprimento do broto (cm), enraizamento (%), oxidação fenólica (%) e sobrevivência (%). UNICRUZ, 2015.

FONTES DE VARIAÇÃO		VARIÁVEIS AVALIADAS		
ANA μM	BAP μM	Número de brotos	Comprimento do broto (cm)	Enraizamento (%)
0	0	1,00 ^{ns}	0,66 ^{ns}	33 a*
0	10	0,8	0,8	0 b
0	20	1	1,33	0 b
0	30	1	1,33	0 b
0	40	0,6	0,6	0 b
0,5	0	1	0,5	0 b
0,5	10	1	1	0 b
0,5	20	1	0,5	0 b
0,5	30	0,66	0,66	0 b
0,5	40	0,8	0,8	0 b
1	0	1	0,75	0 b
1	10	1	1,66	0 b
1	20	1	1,25	0 b
1	30	1	1,25	0 b
1	40	1	1	0 b
CV (%)		13	22	9

*Médias seguidas de letras diferentes, na coluna, diferem entre si pelo teste de Scott knott a 5% de probabilidade de erro.

2.2 Alongamento *in vitro* de *T. catharinensis*

A interação entre concentrações de AIA e concentração de GA3 não foi significativa. Não ocorreu formação de raiz para os diferentes tratamentos testados. Para número de brotos as concentrações de 0 μM de AIA e 0 μM de GA3, 0,5 μM de AIA e 0 μM de GA3 e 1 μM de AIA e 0 μM de GA3 foram superiores aos demais tratamentos. Para comprimento de broto, o tratamento 0,5 μM de AIA e 0 μM de GA3 foi superior aos demais tratamentos. Para oxidação fenólica (%), os menor valores de oxidações foram obtidos para 0 μM de AIA e 0 μM de GA3 e 1 μM de AIA e 0 μM de GA3 (Tabela 2). Villa et al., (2008) trabalhando com amora-preta, também não observaram efeito do GA3 no alongamento *in vitro* nestas espécies.



TABELA 2. Influência de diferentes concentrações de AIA (μM) e GA_3 (μM) no cultivo de *Tabernaemontana catharinensis* em número de brotos, comprimento do broto (cm), oxidação fenólica (%) e sobrevivência (%). UNICRUZ, 2015.

Fontes de variação		Variáveis avaliadas		
AIA μM	GA_3 μM	Número de brotos	Comprimento do broto (cm)	Oxidação fenólica (%)
0	0	0,50 a	0,00 b	50 a
0	0,5	0,00 b	0,00 b	100 b
0	1	0,00 b	0,00 b	100 b
0,5	0	0,50 a	1,00 a	100 b
0,5	0,5	0,00 b	0,00 b	100 b
0,5	1	0,00 b	0,00 b	83 b
1	0	0,33 a	0,16 b	66 a
1	0,5	0,16 b	0,00 b	83 b
1	1	0,17 b	0,33 b	100 b
CV (%)		23,5	28	14

*Médias seguidas de letras diferentes, na coluna, diferem entre si pelo teste de Scott knott a 5% de probabilidade de erro.

CONCLUSÕES

A utilização de ANA e BAP inibe o enraizamento. As concentrações de 1 μM de ANA e 40 μM de BAP promovem oxidação fenólica. A utilização de GA_3 inibe a oxidação fenólica para alongamento de *Tabernaemontana catharinensis*.

REFERÊNCIAS

PEREIRA, P.S.; FRANÇA, S.C.; OLIVEIRA, P.V.A.; BREVES, C.M.S.; PEREIRA, S.I.V.; SAMPAIO, S. V.; NOMIZO, A.; DIAS, A. D.; Chemical constituents from *Tabernaemontana catharinensis* root bark: a brief NMR review of indole alkaloids and in vitro cytotoxicity. *Química Nova*, v. 31, n.01, p. 20-24, 2008.

PEREIRA, C.G.; LEAL, P.F.; SATO, D.N.; MEIRELES, M.A. Antioxidant and antimycobacterial activities of *Tabernaemontana catharinensis* extracts obtained by supercritical CO_2 + cosolvent. *Journal of medicinal food*, n.8, v.4, p.533-538, 2005.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa/CBAB, 1998. 509 p.



XX SEMINÁRIO
INTERINSTITUCIONAL DE ENSINO,
PESQUISA E EXTENSÃO

XVIII MOSTRA
DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA
XIII MOSTRA
DE EXTENSÃO
II MOSTRA
DE PÓS-GRADUAÇÃO
"CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO"
I MOSTRA
DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA JR.



VILLA, F.; PASQUAL, M.; ASSIS, F.A.; PIO, L.A.S.; ASSIS, G.A. Crescimento in vitro de amoreira-preta: Efeito de reguladores de crescimento e da cultivar. **Ciência e Agrotecnologia**, Brasília, v.32, n.6, p.1754- 1759, 2008.