

Micropropagação e enraizamento de estacas herbáceas de erva-de-touro (*Poiretia latifolia* Vogel)

Carolina Custódio Amorim¹, Murilo Dalla Costa² e Pedro Boff³

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar a propagação vegetativa da erva-de-touro (*Poiretia latifolia* Vogel) por meio de micropropagação *in vitro* e enraizamento de estacas herbáceas. Segmentos nodais foram cultivados em meio de cultura nutritivo e em sete concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP). O enraizamento de estacas foi avaliado em diferentes concentrações de ácido indol-3-butírico (AIB). Dados demonstraram que o número e o comprimento de brotações, o número de internódios formados e o número de folhas emitidas não diferiram entre as concentrações de BAP. A porcentagem de enraizamento de estacas também não diferiu entre as concentrações de AIB. Os resultados indicam a necessidade de avaliar concentrações maiores de BAP e buscar outros indutores de enraizamento.

Termos para indexação: Planta bioativa, propagação vegetativa, 6-benzilaminopurina, ácido indol-3-butírico.

Micropropagation and rooting of herbaceous cuttings of *Poiretia latifolia* Vogel

Abstract – The aim of this study was to evaluate the vegetative propagation of *Poiretia latifolia* Vogel through *in vitro* micropropagation and herbaceous cutting rooting. Nodal segments were cultivated in seven concentrations of 6-benzylaminopurine (BAP) into culture media. Stake rooting was also evaluated in different concentrations of indole-3-butyric acid (IBA). Data demonstrated that the number and length of shoots, the number of inter-nodes, and the number of leaves were not affected by the BAP. The percentage of rooting cuttings also did not differ between the concentrations of AIB. Overall, results indicated the need to evaluate higher concentrations of plant growth regulators and other rooting inducers.

Index terms: Bioactive plant, vegetative propagation, 6-benzylaminopurine, indole-3-butyric acid, rooting.

A conservação e a multiplicação de plantas medicinais vêm a cada dia despertando o interesse de trabalhos de pesquisa em nosso país. A biodiversidade da flora brasileira é pouco estudada e há necessidade de conservação das espécies de plantas em risco de erosão genética ou passíveis de biopirataria. As recentes demandas do complexo farmacêutico e o potencial de plantas bioativas em fornecer produtos e moléculas de interesse no tratamento de doenças deixa a flora nativa em disputa de propriedade genética e intelectual, quer pelo patenteamento de genes, quer pela exploração da síntese industrial de seus análogos

metabólitos sintéticos (Nass et al., 2009). Em ambas as situações, o grande interesse determinante é a exploração econômica, uma vez que em torno de 25% dos medicamentos são derivados de extratos vegetais (Rates, 2001).

A erva-de-touro (*Poiretia latifolia* Vogel, Fabaceae) é uma erva aromática do bioma Mata Atlântica, ocorrendo principalmente em regiões alto-montanas⁴ e é considerada terapêutica pelas populações locais do Planalto Serrano de Santa Catarina (Amorim & Boff, 2009) (Figura 1). A parte aérea dessa espécie é utilizada no tratamento de problemas urinários, como aromatizante de chimarrão e

considerada, também, afrodisíaco (Müller, 1984; Amorim & Boff, 2009). Recentemente, constatou-se forte ação antibiótica do óleo essencial extraído das folhas da erva-de-touro em bactérias e fungos patogênicos ao ser humano (Porto et al., 2010). Entre os componentes majoritários do óleo essencial destaca-se a carvona, composto que possui propriedades antimicrobianas (Gudrun & Buchbauer, 2012). A espécie tem distribuição geográfica restrita aos três estados do sul do Brasil e a regiões da Argentina, Paraguai e Uruguai e ainda não é manejada em sistemas de produção agrícola (Müller, 1984).

Recebido em 25/2/2011. Aceito para publicação em 13/8/2012.

¹ Engenheira-agrônoma, Udesc / Centro de Agroveterinária, Av. Luís de Camões, 2090, Conta Dinheiro, 88520-000 Lages, SC, fone: (49) 2101-9100, e-mail: carolinaamorim@agronoma.eng.br.

² Engenheiro-agrônomo, Dr., Epagri / Estação Experimental de Lages, C.P. 181, 88502-970 Lages, SC, fone: (49) 3224-4400, e-mail: murilodc@epagri.sc.gov.br.

³ Engenheiro-agrônomo, Ph.D., Epagri / Estação Experimental de Lages, e-mail: pboff@epagri.gov.br.

⁴ Nota de revisão: Neologismo empregado em fitogeografia para designar áreas acima de 1.200m de altitude.



Figura 1. Erva-de-touro (*Piretia latifolia*) no estágio de plena floração no campo. Lages, SC, 2009

O aumento do conhecimento das formas de propagação e multiplicação da erva-de-touro facilitará a domesticação e o cultivo dessa espécie, especialmente em sistemas de base ecológica. Além da geração de produtos de interesse, o cultivo permitirá a manutenção da diversidade genética da espécie em seu *habitat*. Em vista do curto tempo de viabilidade das sementes da espécie, por possuírem pouco endosperma e baixa reserva nutritiva, torna-se premente a busca de outros meios de multiplicação para o desenvolvimento de sistemas de cultivo.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a propagação vegetativa da erva-de-touro por meio de micropropagação *in vitro* e enraizamento de estacas herbáceas. Para o cultivo *in vitro* foram utilizadas mudas da erva-de-touro cultivadas em vasos na casa de vegetação da Epagri/Estação Experimental de Lages, obtidas

a partir de perfilhos coletados na região da Coxilha Rica, município de Lages, SC (Figura 1).

A parte aérea foi podada e seccionada, fornecendo segmentos nodais com uma gema axilar cada um. Em câmara de fluxo laminar, os segmentos nodais foram desinfestados (álcool etílico 70% por 30s e 15min em NaOCl 1,5%) e transferidos individualmente a tubos de ensaio contendo 20ml de meio de cultura nutritivo. Como meio basal, utilizou-se a formulação de sais e vitaminas MS, acrescida de sacarose (30g/L), mio-inositol (100mg/L) e ágar (7g/L) (Murashige & Skoog, 1962). A partir dessa formulação foram testadas sete concentrações do regulador de crescimento vegetal 6-benzilaminopurina (BAP): 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1, 2 e 3mg/L. Os meios de cultura tiveram o pH ajustado a 5,8 antes da adição do ágar e foram autoclavados a

121°C por 20 minutos.

Os explantes permaneceram em crescimento em sala com temperatura de $24 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas por dia e luminosidade incidente de $50\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$. Após 40 dias, foram avaliados o número e o comprimento de brotações, o número de internódios formados, o número de folhas emitidas *in vitro* e a presença de clorose foliar. O experimento foi conduzido em delineamento completamente casualizado com dez repetições por tratamento, sendo cada repetição formada por um tubo de ensaio com um segmento nodal. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Como as variáveis não atenderam esse pressuposto da análise de variância, mesmo após transformações, os dados foram avaliados com o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$). ►



Figura 2. Erva-de-touro em estaca herbácea enraizada após tratamento com ácido indol-3-butírico. Lages, SC, 2009

Para o enraizamento de *P. latifolia*, estacas herbáceas (Figura 2) com 10cm de comprimento foram imersas por 5min em soluções de ácido indol-3-butírico (AIB) com as concentrações de 0, 0,5, 1, 2 e 4mg/L. Em seguida, as estacas foram transferidas para vasos contendo substrato à base de areia e vermiculita (1:1; v/v) e cultivadas em casa de vegetação com irrigação intermitente. Após 93 dias do tratamento, as estacas foram avaliadas quanto a taxas de sobrevivência, de brotação e de enraizamento; altura de brotações; e comprimento de raízes. O experimento foi conduzido entre novembro de 2008 e fevereiro de 2009, em delineamento completamente casualizado com quatro repetições por tratamento e dez unidades amostrais por repetição. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk antes da análise de variância, e à análise de regressão ($p \leq 0,05$).

Não foram constatadas diferenças entre os tratamentos testados para as variáveis número e comprimento de brotações, número de internódios formados e número de folhas emitidas *in vitro* (Tabela 1). Constatou-se

diminuição gradual da taxa de clorose com o aumento dos níveis de BAP no meio de cultura. Trabalho realizado por Gao et al. (2004) com falso-índigo (*Amorpha fruticosa*) demonstrou maior taxa de proliferação com BAP na concentração de 8mg/L. Sucesso na micropropagação de variedades de leucena (*Leucaena leucocephala*), a partir de segmentos nodais, foi obtido também por Rastogi et al. (2008) na combinação de 4,7mg/L de BAP e 1mg/L de ácido naftalenoacético, sugerindo que trabalhos futuros com erva-de-touro *in vitro* deverão avaliar doses

mais elevadas de BAP em combinações com reguladores do tipo auxina. Além disso, o caráter recalcitrante é tratado como recorrente no cultivo *in vitro* de espécies leguminosas (Rastogi et al., 2008), o que pode estar associado ao pouco sucesso e à dificuldade na regeneração de brotações alcançados neste trabalho.

Foi observado o enraizamento de estacas herbáceas com o uso de AIB (Figura 2). Os tratamentos não diferiram entre si para as variáveis analisadas; entretanto, constatou-se diminuição das taxas de sobrevivência e de brotação das estacas com o aumento da concentração de AIB (Figura 3). Por outro lado, a taxa de enraizamento e o comprimento das raízes responderam positivamente à concentração de AIB. Embora o regulador de crescimento tenha sido pouco eficiente na rizogênese, os resultados indicam que a avaliação de concentrações maiores podem melhorar os índices de formação e crescimento de raízes em estacas herbáceas dessa espécie.

Os problemas associados aos baixos índices de regeneração *in vitro* e de enraizamento de estacas mostram a urgência de propostas de estudos para multiplicação e manutenção da diversidade genética da erva-de-touro. Embora não haja exploração sistemática desse recurso genético quanto a seu potencial medicinal, os resultados

Tabela 1. Número e comprimento de brotações, número de internódios e de folhas (média \pm erro padrão) de explantes de erva-de-touro (*Poiratia latifolia*) cultivada *in vitro* em meio MS em diferentes concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP)

Tratamento (dose BAP)	Brotação (nº)	Comprimento de brotações (cm)	Internódios (nº)	Folhas (nº)	Clorose foliar (%)
0,2mg/L	1,1 \pm 0,1	0,57 \pm 0,1	0,8 \pm 0,2	1 \pm 0,5	80
0,4mg/L	2 \pm 0,4	0,53 \pm 0,15	1,1 \pm 0,5	1,7 \pm 0,6	70
0,6mg/L	1,3 \pm 0,3	0,77 \pm 0,07	1,1 \pm 0,1	2 \pm 0,5	60
0,8mg/L	1,3 \pm 0,2	0,52 \pm 0,08	1 \pm 0,3	1,4 \pm 0,4	50
1mg/L	1,4 \pm 0,3	0,35 \pm 0,13	0,4 \pm 0,2	0,3 \pm 0,2	40
2mg/L	1,6 \pm 0,4	0,65 \pm 0,11	1,4 \pm 0,7	2,6 \pm 0,1	50
3mg/L	1,3 \pm 0,3	0,69 \pm 0,17	0,9 \pm 0,1	1,1 \pm 0,4	30
P (teste F)	0,23	0,26	0,4	0,1	---

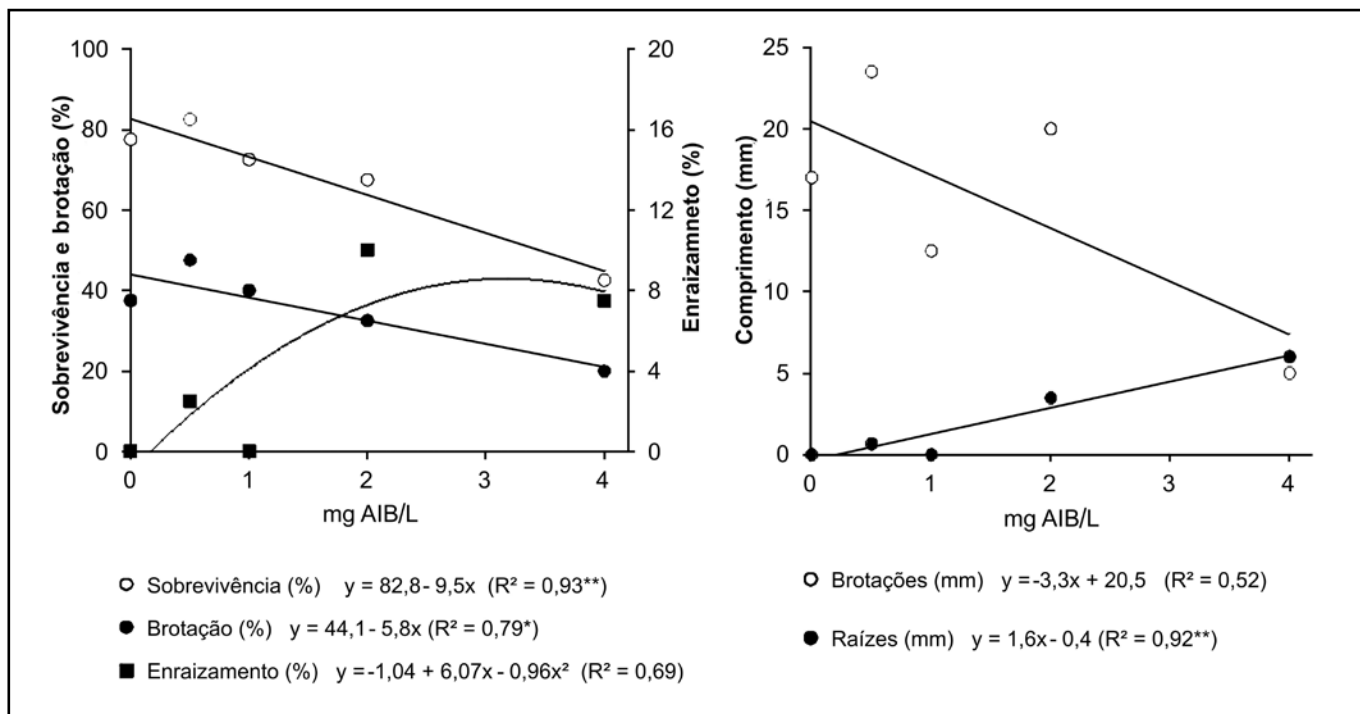


Figura 3. Sobrevivência, brotação e enraizamento (%), e comprimento de brotos e de raízes (mm) de estacas herbáceas de erva-de-touro (*Poiretia latifolia*) induzidas ao enraizamento com ácido indol-3-butírico (AIB) nas concentrações de 0,5, 1, 2 e 4mg/L.

** Modelo de regressão significativo ao nível de 1% ($p < 0,01$).

* Modelo de regressão significativo ao nível de 5% ($p < 0,05$).

deste trabalho mostram as dificuldades relacionadas à produção de mudas por meio da propagação vegetativa, primeiro passo na etapa de domesticação e inclusão da erva-de-touro em sistemas de produção agrícola.

Conclui-se que o uso de BAP nas concentrações mais utilizadas para regeneração *in vitro* de plantas não é eficaz para *Poiretia latifolia*. AIB é também pouco eficiente na indução de rizogênese em estacas herbáceas dessa espécie.

Agradecimentos

Agradecemos pelo apoio do MCT/CNPQ/CT-HIDRO e da Fapesc, através do projeto Rede Guarani/Serra Geral Conv. Fapeu/Fapesc nº 16.261/10-2 e do projeto Fapesc Agrárias nº 7025/2010-4.

Literatura citada

- AMORIM, C.C.; BOFF, P. Etnobotânica da "Medicina Campeira" na Região da Coxilha Rica, SC. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v.4, n.2, p.1596-1599, 2009.
- GUDRUN, L.; BUCHBAUER, G. A review on recent research results (2008-2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. **Flavour and Fragrance Journal**, Nova York, v.27, n.1, p. 3-39, 2012.
- MULLER, C. **Revisão taxonômica do gênero *Poiretia* Vent. (Leguminosae) para o Brasil**. 1984. 171f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 1984.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n.3, p.472-497, 1962.
- NASS, L.L.; WALTER, B.T.; CORADIN, L. The state of diversity. In: MARIANTE, A.S.; SAMPAIO, M.J.A.; INGLIS, M.C.V. (Orgs.) **State of the Brazil's plant genetic resources**. 2.ed. Brasília: Mapa, 2009. p.29-35.
- PORTO, C.; STÜKER, C.Z.; MALLMANN, A.S. et al. (R)-(-)-Carvone and (1R, 4R) trans-(+)-Dihydrocarvone from *Poiretia latifolia* Vogel. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v.21, n.5, p.782-786, 2010.
- RASTOGI, S.; RIZVI, S. M. H.; SINGH, R. P. et al. *In vitro* regeneration of *Leucaena leucocephala* by organogenesis and somatic embryogenesis. **Biologia Plantarum**, Dordrecht, v.52, n.4, p.743-748, 2008.
- RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, Oxford, v.39, n.5, p.603-613, 2001. ■