

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Oriental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*



18º Seminário de
Iniciação Científica e
2º Seminário de Pós-graduação
da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2014

12 a 14 de agosto

Embrapa
Belém, PA
2014



PRODUÇÃO DE MUDAS *IN VITRO* PARA A INDÚSTRIA DE PERFUMARIA

Marly Pedroso da Costa¹, Osmar Alves Lameira², Renato Innecco³, Suzana Marques Barbosa⁴

¹Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da UFC. marly@ufpa.br

²Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Biotecnologia. osmar.lameira@embrapa.br

³Professor do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da UFC. innecco@ufc.br

⁴Bolsista da Embrapa Amazônia Oriental. suzanamarques2006@yahoo.com.br

Resumo: A pataqueira, *Conobea scoparioides* (Cham. & Schldtl.) Benth, tem como centro de origem a Amazônia. Sua propriedade medicinal e aromática tem despertado o interesse das indústrias Farmacêuticas e de Cosméticos/Perfumaria, como também de pesquisas nas áreas de Química e Botânica. A produção de plantas através de estacas e sementes não atende o mercado. A micropropagação utilizada para produção em alta escala de várias espécies pode ser uma técnica alternativa de produção de mudas de pataqueira. Neste estudo foi testado três tipos de explantes com quatro dosagens de BAP (6-benzilaminopurina). O delineamento foi inteiramente casualizado, em fatorial 3x4 (segmentos apical, nodal e internodal; 0, 1, 2 e 3 mg/l⁻¹ de BAP) com cinco repetições. A análise estatística indicou como resultado promissor, o segmento apical na presença de 1mg/l⁻¹ de BAP. A produção de plantas *in vitro* para posterior formação de mudas alcançou a escala de 21 plantas/broto de pataqueira.

Palavras-chaves: *Conobea scoparioides*, micropropagação, planta aromática e medicinal

Introdução

Espécie com altíssimo interesse para as Indústrias Farmacêutica, Cosméticos e perfumaria Brasileiras, indicada como principal fonte de timol para Amazônia. Trata-se da *Conobea scoparioides* (Cham. & Schldtl.) Benth., conhecida popularmente como “pataqueira”, planta originária da Amazônia. Em recentes pesquisas botânicas de filogenia foi relatado que esta espécie enquadra-se na família Plantaginaceae. Deixando de pertencer tradicionalmente à família Scrophulariaceae.

Esta erva completa seu ciclo de vida em um ritmo muito rápido, cresce, floresce e rapidamente entra na senescência e morre. Podendo as sementes ser coletadas durante os dois meses de floração, abril e maio. Este desenvolvimento rápido requer áreas semi-inundadas, solo arenoso e clima tropical úmido, com alta temperatura e umidade do ar elevada. Clima típico da região norte onde a erva se adapta muito bem (MINA; MONTAÑO, 2011). Segundo Barata (2012), a Indústria de perfumaria e cosméticos no Brasil está em pleno crescimento, o mercado pode chegar a U\$ 20 bilhões. A participação da Amazônia neste contexto situa-se no poder de gerar óleos essenciais, derivados e



produtos finais. O autor comenta que o mercado de perfumaria tem um grande interesse pela descoberta de novos produtos da floresta Amazônica. Se tratando da erva pataqueira, os sistemas de propagação sexuada (sementes) e assexuada (estaquia) existentes, sinalizam limitações diminuindo potencial agrícola desta espécie (MIRNA; MONTAÑO, 2011). Os pesquisadores relatam que a germinação ocorre na faixa de 51% e as plântulas atingem o tamanho de 0,5 mm, o que dificulta o manejo agrônomico. Já a propagação por estaca apresentou uma taxa de enraizamento de 37% e emissão de 6 brotos/planta. A cultura de tecidos pode ser usada como técnica alternativa para a multiplicação de pataqueira. A micropropagação é um dos mais promissores métodos para assegurar o uso sustentável de recursos vegetais. Muitas plantas medicinais são multiplicadas *in vitro*. O objetivo deste estudo foi utilizar a micropropagação para produzir mudas de qualidade em grande escala para a Indústria de Cosméticos/Perfumaria, ultrapassando a escala de propagação dos métodos convencionais, sexuada (51% germinação) e estaquia (6 brotos/estaca).

Material e Métodos

Os explantes utilizados foram obtidos a partir de plantas de pataqueira já estabelecidas *in vitro*. Segmentos apicais, nodais e internodais com tamanhos de cerca de 1cm de comprimento foram inoculados em frascos (200 ml) contendo 30 ml de meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) adicionado com quatro diferentes concentrações de BAP (0, 1, 2 e 3 mg.l⁻¹) e solidificado com phytigel a 0,2%. Foram inoculados três segmentos por frasco, os quais foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25±3 °C, fotoperíodo de 16 h. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial 3x4 (tipos de segmentos x concentrações de BAP) com cinco repetições, representada cada por dois frascos, e cada frasco com três brotos. Foi avaliada a percentagem de sobrevivência, o número médio de brotações e altura média dos brotos, 30 dias após a inoculação. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância, com a aplicação do teste F a 5% ou 1% e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%). Ao final da fase de multiplicação, os brotos passaram para a fase de enraizamento *in vitro*, em seguida as plantas foram destinadas à aclimação no telado. Após um mês de adaptação *ex vitro*, as mudas foram adquiridas pela Indústria de Perfumaria NATURA.

Resultados e Discussão

Os segmentos nodal e internodal apresentaram alta perda, pois somente 29% e 0,84%, respectivamente, conseguiram sobreviver. Estes segmentos no 15^o dia de inoculação já apresentaram



senescência, levando à morte a maioria dos explantes, ao final, no 30^o dia. Deste modo, foi inviabilizado a coleta de dados para os outros parâmetros, até mesmo com 0 mg/l⁻¹ de BAP.

Foi constatado a senescência seguida de morte nos três tipos de segmentos e em todas as concentrações de BAP, incluindo a dosagem testemunha. Sinalizando danos generalizados nos tecidos. No entanto, houve maior severidade nos tecidos que sofreram 2 incisões nas extremidades, ou seja, nos seguimentos nodal e internodal. Possivelmente, o tecido danificado, foi o aerenquemático presente na constituição anatômica da espécie e responsável pela troca gasosa. Na pesquisa anatômica da pataqueira, Mina e Montañó (2011) confirmam a presença dos espaços intercelulares que se prolongam das raízes até as folhas. O que, favorece a difusão do oxigênio em lugares alagados onde a espécie se adapta perfeitamente. O segmento apical, apresentou sobrevivência mínima (50%), sendo possível realizar as avaliações pertinentes ao estudo (Tabela 1).

Tabela 1- Parâmetros comportamentais do segmento apical em meio MS: % sobrevivência, médias de produção e altura de brotos.

	BAP (mg.l ⁻¹)				C.V (%)
	0	1	2	3	
Sobrevivência (%)	96,67	66,67	50	70	
Média de brotos produzidos	11,65 b	21,75 a	13,25 b	21,58 a	25,31
Média de altura dos brotos (cm)	3,38 a	2,04 ab	0,93 b	0,93 b	45,04

* As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Nas três dosagens com BAP, é visível que as percentagens de sobrevivência foram menores que a do tratamento controle (96,67%). Significando que o BAP também teve participação na morte dos segmentos, juntamente com o dano no aerênquima, em consequência das incisões nos tecidos. No caso do apical, apenas uma incisão. A explicação situa-se no fato de que o BAP estaria exigindo muito do tecido danificado. Pois as citocininas induzem a divisão celular e estimulam a maior produção de brotos (TAIZ; ZEIGER, 2004). Mesmo danificado o segmento apical, respondeu satisfatoriamente ao estímulo do BAP na concentração de 1mg.l⁻¹ apresentando uma das maiores média na produção brotos e na altura destes. Já a concentração de BAP de 2mg/l⁻¹ por exigir ainda mais do tecido danificado, obteve uma baixa % de sobrevivência e conseqüentemente menor de produção de brotos. Contudo, na concentração de 3mg.l⁻¹ não houve diferença significativa com a de 1mg/l⁻¹ de BAP para produção de brotos. Isto pode ser explicado pelos relatos de Taiz e Zeiger (2004), que comentam que a senescência é um processo regulado também pelas citocininas. Deste modo, acredita-se que 3mg/l⁻¹ de BAP tenha sido a concentração mais capaz de intervir no processo de senescência. Alcançando com isto uma maior % de sobrevivência entre os três tratamentos com BAP e, conseqüentemente, apresentando uma das maiores médias de produção de brotos. Porém, apresentou os brotos em roseta.



A altura (0,93 cm) destes brotos com 3mg.l^{-1} de BAP organizados em roseta foi significativamente diferente da altura (3,38cm) de 0 de BAP. Segundo Leshem et al. (1988) o uso de citocininas em níveis elevados pode ser tóxico, pois leva à formação de rosetas e inibe o alongamento. As citocininas estimulam a maior produção de partes aéreas das brotações até determinada concentração, a partir da qual, ocorre diminuição da altura em virtude de possível efeito fitotóxico da citocinina. O segmento apical na presença de 1mg.l^{-1} de BAP indicou um comportamento moderado, uma vez que apresentou uma das maiores médias de brotação, sendo significativamente diferente do tratamento 0 de BAP que induziu o menor formação de brotos. Além disto, em termos de altura dos brotos, o tratamento 1mg.l^{-1} de BAP mostrou diferença não significativa comparado ao tratamento (0 mg.l^{-1}) que promoveu maior altura. Em todos os tratamentos contendo o segmento apical, ocorreu a morfogênese de raiz.

Conclusões

É possível a obtenção de 1000 plantas viáveis à aclimação partir de 50 brotos apicais inoculados em meio de cultura MS. Para tanto, se faz necessária a presença do regulador de crescimento BAP na concentração de 1mg.l^{-1} . Esta escala de propagação é equivalente a média de produção de 21 plantas/broto apical inoculado. Desta forma, o uso da micropropagação é promissora como tecnologia de propagação de mudas de pataqueira.

Agradecimentos

A Embrapa/Natura pela realização do trabalho.

Referências Bibliográficas

- BARATA, L. E. S. A economia verde – Amazônia. **Ciência e Cultura**, v. 64, n. 3, p. 1-14, 2012.
- LESHEM, B.; WERKER, E.; SHALEV, D. P. The effect of cytokinins on verification in melon and carnation. **Annals of Botany**, v. 62, p. 271-276, 1988.
- MINA, R. T. G.; MONTAÑO, A. M. H. Primeiros ensayos para El cultivo Y caracterización Del aceite esencial de *Conochea scoparioides* (Cham. & Schltld.) *Benth.* para el Pacífico colombiano. **Estramado**, v. 7, p. 174-185, 2011.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-97, 1962.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.