

EFEITO DOS TRATAMENTOS DE OXIDAÇÃO EM *Aloysia virgata*

Rômulo Magno Oliveira de Freitas

Graduando em Agronomia- Deptº. de Ciências Vegetais da UFERSA- 59625-900, Mossoró-RN
E-mail: romulomagno_23@hotmail.com

Mychelle Karla Teixeira de Oliveira

Engª.Agrª. Mestranda em Fitotecnia, UFERSA, C.P. 137, 59625-900-Mossoró-RN
E-mail: mkto10@hotmail.com.br

Jeferson Luiz Dallabona Dombroski

Prof. DSc. Deptº. Ciências Vegetais da UFERSA 59625-900, Mossoró-RN
E-mail: jeferson@ufersa.edu.br.

Francisco Augusto Alves Câmara

Engº.Agrº. MSc. Deptº. Ciências Vegetais, C.P. 137, 59625-900-Mossoró-RN
E-mail: augustocamara@ufersa.edu.br

Raimundo Viana da Silva Neto

Graduando em Agronomia- Deptº. de Ciências Vegetais da UFERSA- 59625-900, Mossoró-RN
E-mail: romulomagno_23@hotmail.com

Resumo – Este trabalho foi realizado com o objetivo de estabelecer uma técnica para o controle da oxidação, na micropropagação *in vitro* da *aloyisia virgata*. O delineamento utilizado foi o Inteiramente Casualizado (DIC), com 5 tratamentos e 20 repetições. Sendo os tratamentos: T1: controle (sem carvão ativado, sol), T2 (carvão, sol), T3 (escuro, sem carvão), T4 (lavagem, controle), T5 (escuro, carvão). As características avaliadas foram os níveis de oxidação, a percentagem de contaminação (fungo, bactéria) e o desenvolvimento (altura, número de folhas). Diante dos resultados apresentados pode-se concluir que a *Aloysia virgata* apresenta facilidade de oxidação. A lavagem em água favorece a disseminação de fungos e bactérias. O ambiente escuro e o meio com carvão ativado foram eficientes no controle da oxidação.

Palavras-chave: carvão ativado; cultura de tecidos; oxidação.

EFFECT OF THE OXIDATION TREATMENTS IN *Aloysia virgata*

Abstract - This work was accomplished with the objective of establishing a technique for the control of the oxidation, in the micropropagation *in vitro* of the *Aloysia virgata*. The experimental design utilized was the completely randomized one, with 5 treatments and 20 replications. Being the treatments: T1: control (without activated coal, sun), T2 (coal, sun), T3 (darkness, without coal), T4 (wash, control), T5 (darkness, coal). The characteristics evaluated were the oxidation levels, the percentage of contamination (fungus, bacterium) and the development (height, number of leaves). Before the presented results it can be concluded that the *Aloysia virgata* presents oxidation easiness. The wash in water favors the spread of fungus and bacterium. The dark ambient and the middle with activated coal were efficient in the control of the oxidation.

Key words: activated charcoal, tissue culture, oxidation.

INTRODUÇÃO

A Região Nordeste tem grande importância como produtora de mel, produzindo 33,4% do total nacional e ganhando participação relativa. Todos os estados dessa região aumentaram sua produção relativamente em 2005, à exceção de Alagoas que teve queda de 10,9% e de Piauí que caiu 6,7%. Por outro lado, a produção na Paraíba

mais que dobrou e no Ceará e Rio Grande do Norte houve aumentos por volta de 30% em cada um (IBGE, 2005).

A família da *Verbenaceae* compreende 100 gêneros distribuídos nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo. São plantas herbáceas, arbustivas ou arbóreas pequenas, de folhas inteiras, de disposições alternas ou opostas (às vezes na mesma planta). Flores em geral pequenas, reunidas em densas inflorescências

vistosas (JOLY, 1976). A *Aloysia virgata* conhecida vulgarmente como mutre, pertence a esta família e possui importância além de um grande potencial na região Nordeste, por ser uma planta adaptada ao clima do semi-árido e principalmente por apresentar requisitos importantes que a classificam como uma boa fonte de néctar para as abelhas com abundância de suas flores, predominância de abertura floral ao longo do dia, néctar com boa concentração de açúcar, florescimento contínuo ao longo do ano e a presença de uma população de abelhas forrageando durante todo o ano (SANTOS, 1999).

A cultura de tecidos pode ser definida como o cultivo de todos os tipos de células, tecidos e órgãos da planta, sob condições assépticas (SMITH & DREW, 1990). Em um sentido mais restrito, como um processo mediante o qual pequeno fragmento de tecido vivo é isolado de um organismo e cultivado asépticamente, por períodos indefinidos, em um meio nutritivo (MANTELL et al., 1994). O processo está baseado na totipotencialidade dos explantes, ou seja, no princípio de que cada célula vegetal possui o potencial genético para reproduzir um organismo inteiro, o que o torna uma ferramenta poderosa para a propagação massal de genótipos superiores (TORRES et al., 1998).

Dentre a técnica de Cultura de Tecidos Vegetais a micropropagação de espécies lenhosas vem sendo estudada há várias décadas e tem como objetivo básico o estabelecimento de uma metodologia de multiplicação clonal de indivíduos superiores ou tão somente a multiplicação em maior escala de mudas idênticas.

As plantas perenes lenhosas são consideradas ricas em substâncias derivadas do metabolismo secundário como os polifenóis, os quais exercem importante papel no metabolismo destas espécies, bem como na defesa contra predadores e microorganismos. *In vitro*, a oxidação fenólica constitui um dos principais problemas enfrentados no início do estabelecimento e durante o cultivo de explantes destas espécies. A oxidação fenólica é altamente dependente do genótipo. Alguns gêneros de plantas são mais suscetíveis à oxidação fenólica que outros. A oxidação fenólica depende igualmente do tipo de explante utilizado. Explantes jovens em geral oxidam menos.

A época do ano é um outro fator importante que influencia o teor de polifenóis e conseqüentemente a oxidação (TEIXEIRA, 2001). Em regra geral, naqueles períodos do ano mais favoráveis ao crescimento, a concentração de polifenóis nos tecidos é menor e, conseqüentemente, menor a oxidação fenólica dos explantes *in vitro*. A remoção dos polifenóis oxidados ou não imediatamente após a desinfestação contribui para redução da oxidação em fases posteriores de cultivo. A lavagem do explante por 2 a 3 horas pode contribuir para reduzir a exudação e oxidação posterior durante o cultivo (LANE, 1978).

Diversos fatores afetam o teor de compostos fenólicos e, por conseqüência, o grau de oxidação e inibição do estabelecimento e crescimento de explantes. A

adição de carvão ativado evita o acúmulo de inibidores fenólicos, mas pode também adsorver reguladores de crescimento e outros componentes do meio e pode ser tóxico a alguns tecidos. O escurecimento de explantes tem sido evitado em inúmeras culturas em concentrações que variam desde 0,2 até 5g/L. A atividade de enzimas relacionadas com a biossíntese e oxidação de fenóis é aumentada pela luz. O escurecimento é menor em explantes retiradas de plantas cultivadas no escuro ou em baixa intensidade luminosas. As culturas são, em geral, iniciadas mais rapidamente se explantes forem mantidos no escuro por algumas semanas (PASCAL, 2001).

O objetivo do presente trabalho foi estabelecer uma técnica para o controle da oxidação, na micropropagação *in vitro* da *Aloysia virgata*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Ciências Vegetais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Os materiais coletados foram segmentos nodais de plantas adultas de *Aloysia virgata*, encontradas no viveiro de mudas localizado no Campus da UFERSA.

O delineamento utilizado foi o Inteiramente Casualizado (DIC), com 5 tratamentos e 20 repetições, sendo cada parcela representada por um tubo de ensaio. Os tratamentos constaram de pré-tratamentos antes da inoculação compreendido de ensacamento com papel pardo durante 5 dias, lavagem dos explantes em água corrente durante 24 horas e utilização de escurecimento do meio nutritivo WPM (LLOYD & MCCOWN, 1980) com a adição de carvão ativado, a testemunha consistiu do controle sem carvão e exposição direta a luz solar.

Os tratamentos foram: T1 - controle (sem carvão ativado, com exposição à luz solar); T2 - (com carvão ativado, com exposição à luz solar); T3 - (escuro, sem carvão ativado); T4 - (com lavagem de 24 horas em água corrente, tratamento controle); T5 - (escuro, com carvão ativado).

Foram utilizados explantes com aproximadamente 2 cm de comprimento, em seguida foram imersos em solução comercial de Hipoclorito de Sódio a 10% com 2 gotas de espalhante adesivo (detergente comercial), para cada 100 ml de solução, por 20 minutos. Em câmara de fluxo laminar foram inoculados em tubos de ensaio (2,5 x 15 cm) contendo 10 ml de meio de cultura suplementado com 4 µM de ácido nicotínico; 2,4 µM de piridoxina.HCL; 0,3 µM de tiamina.HCL; 27,0 µM de glicina; 100 mg.L⁻¹ de mio-inositol; e sacarose (30 g.L⁻¹). O pH foi ajustado para 5,2 ± 0,1 antes da autoclavagem. Os explantes foram mantidos à temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 horas e irradiância de 30 µmol m⁻²s⁻¹. Foram feitas 5 avaliações em intervalos de cinco dias. As características avaliadas foram: Níveis de oxidação (Nível

1- Não oxidado; Nível 2- Parte oxidado; Nível 3- Média oxidação; Nível 4- Oxidação em todo o explante.), A porcentagem de contaminação (Fungos ou Bactérias) e o desenvolvimento (altura e número de folhas emergentes).

A oxidação e crescimento foram submetidos à análise estatística, sendo a normalidade testada pelo método de Kolmogorov-Smirnov com correção de Cilliefors, com duas amostras independentes através do programa SPSS, e a homogeneidade e variâncias testada pelos métodos de Bartlett e Cochran, enquanto que para a contaminação, os dados foram submetidos à distribuição binomial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios para níveis de oxidação, altura, número de folhas e contaminação encontram-se na tabela 1. Pode-se observar que houve diferença significativa para oxidação e para as variáveis de desenvolvimento e contaminação por bactérias, ao passo que para

porcentagem de contaminação por fungos não ocorreu diferença significativa.

Houve diferença da condição de ambiente claro, e meio sem carvão ativado apresentando o nível máximo de oxidação dos explantes, mesmo efeito foi observado para a lavagem por 24 horas em água corrente. Resultado semelhante foi obtido por Sato et al. (2001) trabalhando com *Celtis* sp, verificou que apenas na lavagem de 45 minutos houve oxidação dos explantes, indicando que a lavagem em água não diminuiu a oxidação para esta espécie. Para o tratamento na condição de escuro foi observado pouca oxidação, e para o com carvão ativado não ocorreu oxidação, sendo este o melhor resultado obtido.

Quanto ao desenvolvimento verificou-se efeito significativo para altura e número de folhas. Por conseguinte, a contaminação por fungos e bactérias apresentou uma variação de 13% a 20%, respectivamente. Porém, com uma exceção no tratamento da lavagem em que houve porcentagem de 100% de contaminação por bactérias.

Tabela 1. Valores médios para níveis de oxidação, altura, número de folhas e contaminação por bactérias e fungos encontrados em condições *in vitro* na *Aloysia virgata*. UFERSA, Mossoró, RN, 2007.

Tratamentos*	Oxidação		Desenvolvimento		Contaminação (%)	
	Média **	Mediana	Altura	Nº Folhas	Bactérias	Fungos
T1	3,93 b	4,0 b	0,65 a	0,0 a	0,13 a	0,13 a
T2	4,00 b	4,0 b	0,77 ab	0,0 a	0,0 a	0,0 a
T3	1,73 a	1,0 a	1,57 c	1,47 b	0,0 a	0,0 a
T4	4,00 b	4,0 b	0,86 b	0,0 a	1,0 b	0,2 a
T5	1,07 a	1,0 a	1,15 bc	1,27 b	0,2 a	0,2 a

*T1: controle (sem carvão ativado, sol), T2 (carvão, sol), T3 (escuro, sem carvão), T4 (lavagem, controle), T5 (escuro, carvão ativado). ** Médias seguidas pela mesma letra na coluna não difere estatisticamente entre si.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados pode-se concluir que: a *Aloysia virgata* apresenta facilidade de oxidação. A lavagem em água favorece a disseminação de fungos e bactérias. O ambiente escuro e o meio com carvão ativado foram eficientes no controle da oxidação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

IBGE. **Produção agrícola municipal**. In: Dowload. Rio de Janeiro: IBGE, 2005. Disponível em < <http://www.ibge.gov.br/download>. > Acesso 26 de Agosto de 2007.

JOLY, A.B. **Botânica**; Introdução à taxonomia vegetal. São Paulo: Editora Nacional, 1976. Terceira edição, p.579-585.

LANE, W.D. Regeneration of apple plants from shoot meristem tips. **Plant Sci. Lett.** v.13, p. 281-285, 1978;

LLOYD, G.H.; McCOWN, B.H. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot-tip culture. **Proceedings of Annual Meetings - International Plant. Propagator's Society**, Washington, v.30, p. 421-427, 1980.

MANTELL, S.H.; MATTHEWS, J.A.; MCKEE, R.A. **Princípios de biotecnologia em plantas**: uma introdução à engenharia genética em plantas. Ribeirão Preto: SBG, 1994. Cap. 5, p. 101-158.

PASCAL, M. **Introdução**: fundamentos básicos. Lavra: UFLA/FAEPE, 2001. Cap. 5, p. 37-45.

SANTOS, A.M.S.N. **Estudo do Mutre (*Aloysia virgata*) como fonte de néctas para abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) no estado do Ceará**. Dissertação (Doutorado)-

UFC, Ceará. 1999. Disponível em: <
www.zootecnia.ufc.br/dissertacao1999r.htm> Acesso em:
19. out. 2007.

SATO, A.Y.; DIAS, H.C.T.; ANDRADE, L.A. ; SOUZA,
V.C. Micropropagação de *Celtis sp*: controle da
contaminação e oxidação. **Cerne**, v.7. n.2, p.117-123,
2001.

SMITH, E.F.; DREW. Current applications of tissue in
plant propagation and improvement. **Aust. Journal Plant
Physiol**, v.17, p.267-289, 1990.

TEIXEIRA, J.B. **Limitações ao processo de cultivo *in
vitro* de espécies lenhosas.** Disponível
em:<www.dcf.ufpa.br/cerne/revistav7n22001/11%20artigo%20002.pdf>Acesso em: 19. out. 2007.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de
tecidos e transformação genética de plantas.** V. 1 e 2.
Brasília – SPI/Embrapa – CNPH,1998. 2v, 864p.