

Introdução

As plantas da família das Amaryllidaceae são bem conhecidas por apresentarem variedades ornamentais e também pela produção de um grupo único de moléculas, chamadas de alcaloides isoquinolínicos. Os alcaloides de Amaryllidaceae possuem atividades antivirais, antitumorais e anticolinesterase. A montanina é um alcaloide isolado das plantas da espécie *Rhodophiala bifida* e apresenta propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e antioxidantes. Até o momento, não existe qualquer relato sobre a regeneração *in vitro* de plantas desta espécie. A biotecnologia vegetal é um método útil que tem como objetivo a obtenção de compostos do metabolismo secundário e o cultivo de plantas, células ou órgãos capazes de sintetizá-los. Com base nisso, devido à importância medicinal dos alcaloides produzidos por essas plantas e o uso da cultura de tecidos como uma fonte alternativa de produção destas moléculas, estes estudos são justificados visando realizar o desenvolvimento de técnicas *in vitro* que proporcionem oportunidades futuras de produção dos alcaloides de Amaryllidaceae, como a montanina, *in vitro*.

O objetivo deste estudo foi realizar a micropropagação *in vitro* da espécie *Rhodophiala bifida*, por organogênese direta, visando a produção de montanina.

Materiais e métodos

As plantas foram coletadas, desinfestadas, seccionadas em fragmentos de 1,0 x 1,5 cm, e inoculadas em dez variações de meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) acrescido de 100 mg L⁻¹ de inositol, 1 g L⁻¹ de caseína, 7 g L⁻¹ de ágar, pH 5,5 e diferentes concentrações de sacarose (SAC), cinetina (CIN), ácido naftaleno acético (ANA), 6-benzilaminopurina (BAP) e ácido diclorofenoxiacético (2,4-D).

Após a inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento como fotoperíodo de 16h e densidade de fluxo de fótons de 40 μmol m⁻² s⁻¹, a 25 °C ± 2 °C, por 60 dias. As trocas de meios foram realizadas a cada 4 semanas. Ao final, foram avaliados quanto ao percentual de indução de calos, brotos e bulbos por tratamento.

Resultados e discussão

Os melhores resultados da organogênese foram obtidos após 2 meses de cultura no meio MS acrescido de 0,1 mg L⁻¹ de ANA + 0,5 mg L⁻¹ de BAP (Tabela 1), no qual, 36% dos explantes produziram brotações. Estas condições geraram microplantas com bulbos (Figura 1-B), após 40 dias em cultura.



Figura 1. Plantas de *Rhodophiala bifida* selvagens (A), obtidas por organogênese direta a partir de explantes bulbares (B) e plantas em multiplicação (C).

As plantas de *R. bifida in vitro* (Figura 1-C), ao final dos 60 dias de crescimento foram analisadas quanto à produção de montanina, alcaloide presente nesta espécie *in natura*. Por meio de análises em HPLC, pode-se detectar a presença do ponto de retenção e do UV característicos desta molécula (Figura 2).

Tabela 1. Efeito das diferentes porcentagens de meio sobre a formação de explantes de *Rhodophiala bifida*, em diferentes dias de tratamento.

Meio	20 dias	40 dias	60 dias
I	0a	4b	8bc
II	8a	12b	20ab
III	0a	0b	4bc
IV	0a	0b	0c
V	0a	0b	0c
VI	0a	3,3b	3,3bc
VII	6,3a	31,25a	36,25a
VIII	6,7a	15ab	15bc
IX	0a	0b	6,7bc
X	0a	0b	0c

Valores na mesma coluna, com a mesma letra, não são estatisticamente diferentes de acordo com Tukey (p<0,05)

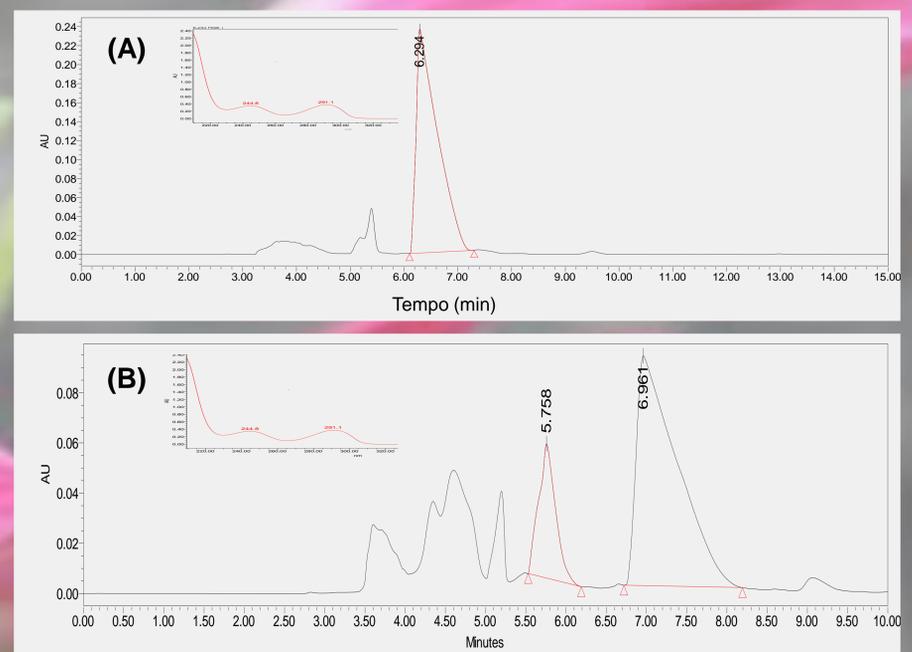


Figura 2. Cromatograma e espectro de absorção UV (detecção 254nm) de plantas de (A) *Rhodophiala bifida* selvagens, tempo de retenção (TR) da montanina em 6,294 minutos e (B) das plantas cultivadas *in vitro* em meio MS + 0,1 mg L⁻¹ ANA + 0,5 mg L⁻¹ BAP, após 60 dias de tratamento, (TR) montanina em 5,758 minutos. O espectro UV foi o mesmo para ambas plantas testadas.

Conclusão

Dessa forma, após os experimentos realizados, pode-se concluir que por meio deste protocolo de regeneração pode-se obter o alcaloide montanina, pela primeira vez, em plantas *Rhodophiala bifida* cultivadas *in vitro*.

Referências

MURASHIGE, T; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum*, v.15, p.473-497, 1962.

Agradecimentos