

COMUNICAÇÃO

DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE *Calendula officinalis* GERMINADAS *IN VITRO* COM SUBSTRATO DE ALGODÃO OU DE MEIO MS¹

Cristiane Maria Costa²
Ricardo Antonio Ayub³

RESUMO

Calêndula é uma planta ornamental com propriedades medicinais, utilizada nas indústrias farmacêutica, de cosméticos e de alimentos. O crescente interesse pela fitoterapia e a grande demanda desta planta acentua a possibilidade de manipulação biotecnológica da calêndula. Com este objetivo procurou-se estabelecer as melhores opções para o fornecimento de explantes *in vitro*, avaliando-se o desenvolvimento inicial de plântulas de calêndula germinadas em substrato de algodão e meio MS/2. O material utilizado foi a semente e sua respectiva plântula. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. A grande diferença no desenvolvimento das plântulas devido ao substrato e a grande superioridade do meio MS/2 em relação ao algodão permitem a sua recomendação como fornecedor de explantes para a cultura de tecidos.

Palavras-chaves: calêndula, peso de matéria fresca, número de folhas, comprimento e número de raízes.

ABSTRACT

INITIAL DEVELOPMENT OF *Calendula officinalis* *IN VITRO* GERMINATED IN COTTON SUBSTRATE AND MS MEDIUM

Pot marigold is an ornamental plant with medicinal properties, used in the pharmaceutical industry, cosmetics and foods. The increasing interest for phytotherapy and the great demand for this plant has encouraged its biotechnological manipulation. Thus, the best options were established to provide *in vitro* explants in order to evaluate the initial development of marigold seedlings germinated in cotton substrate and MS/2 medium.

¹ Aceito para publicação em 09.08.2001.

² Universidade Estadual de Ponta Grossa, Departamento de Fitotecnia. Praça Santos Andrade. 84010-330 Ponta Grossa, PR.

³ Autor para correspondência: rayub@uepg.br

Seeds and their respective seedlings were used. The experimental design was completely randomized. The great difference found in seedling development due to the use of substrate and the great advantage of using MS/2 medium compared to cotton suggests its recommendation as a provider of explant for the tissue culture.

Key words: marigold, fresh weight of raw material, number of leaves, length and number of roots.

Calendula officinalis é uma planta anual, de origem incerta, que pertence à família das Asteraceae. É conhecida popularmente por calêndula, maravilha-dos-jardins, bem-me-quer, malmequer, dentre outros nomes (9). As flores variam do amarelo-claro ao alaranjado, e a planta pode atingir até 60 cm de altura. É mais produtiva no inverno, sendo, inclusive, resistente a geadas leves, mas pode ser cultivada o ano todo (10).

A calêndula é planta com propriedades medicinais, da qual são utilizadas, principalmente, as folhas e flores, na indústria farmacêutica, para a produção de anti-inflamatórios, cicatrizantes e antissépticos (12). Também é utilizada na indústria de cosméticos, na composição de xampus, cremes e sabonetes, e na indústria de alimentos, como corante natural (6).

O crescente interesse pela fitoterapia tem intensificado o extrativismo de plantas medicinais (5). Essa coleta feita de forma intensa, desordenada e não-sustentável reduz as populações naturais dessas plantas e, conseqüentemente, compromete o abastecimento do comércio e a própria biodiversidade (8). Assim, a busca de diferentes formas de se viabilizar a produção de biomassa das plantas medicinais começa a ganhar impulso, como é o caso dos trabalhos de Vieira et al. (12), que utilizaram cama de aviário como substrato para germinação, avaliando a produção de biomassa nas diferentes formas de diásporo. O primeiro passo foi dado por Bertoni (1), que observou que a porcentagem de germinação dos diásporos é afetada pelo polimorfismo, enquanto as sementes germinadas em placa de petri, a 28°C, independem deste (2).

Na busca de melhores opções para o fornecimento de explantes *in vitro* da *Calendula officinalis*, este trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento inicial de suas plântulas germinadas *in vitro* em substrato de algodão ou em meio MS/2.

As sementes de *Calendula officinalis* utilizadas foram colhidas no viveiro da Universidade Estadual de Ponta Grossa, PR. A assepsia das sementes ocorreu por imersão destas em etanol 70%, por 40 segundos, seguida pela imersão em hipoclorito de cálcio 3%, por 15 minutos, sendo, por fim, enxaguadas por 4 vezes em água destilada estéril, em câmara de fluxo laminar.

Foram colocadas 10 sementes em cada frasco. O meio MS (7) foi utilizado com a metade da concentração dos sais e vitaminas, 15 g/l de sacarose, sendo corrigido o pH para 5,8 pela adição de NaOH e então

adicionados 7 g/l de ágar. Foram distribuídos 25 ml do meio por frasco, os quais foram autoclavados por 20 minutos a 1 atm. Os tratamentos estão descritos a seguir:

1. Sementes colocadas para germinar em substrato de fibra de algodão umedecido, a 25°C, sob luz (2.600 lux), por 16 e 8 horas, no escuro.

2. Sementes colocadas para germinar em meio de cultura MS/2 sólido, a 25°C, sob luz (2.600 lux), por 16 e 8 horas, no escuro.

Apesar de as Regras para Análise de Sementes (3) prescreverem outras temperaturas, optou-se por trabalhar a 25°C, pois esta é a temperatura da sala de cultura de tecidos e já conta com as horas de luz recomendadas para o teste de germinação

Quinze dias após o início dos tratamentos, foram avaliados a porcentagem de germinação, o peso de plântula, o número de folhas, o número de raízes secundárias mais a pivotante e o comprimento da raiz principal. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos e 10 repetições para as variáveis peso de plântula, número de folhas, número de raízes e comprimento de raiz.

Os resultados da porcentagem de germinação não foram submetidos à análise de variância, uma vez que as médias foram todas iguais.

A porcentagem de germinação atingiu 100% em ambos os tratamentos, durante os quinze dias (Quadro 1), resultado este que se assemelha ao obtido por Bertoni et al. (2).

Verifica-se que o substrato exerce forte influência no desenvolvimento inicial das plântulas de calêndula. Todos os dados analisados apresentaram médias superiores quando as plântulas foram germinadas em meio MS/2. Conseqüentemente, o desenvolvimento inicial da plântula responde aos nutrientes disponíveis no meio MS, resultando em ganho de peso três vezes superior ao tratamento com algodão, que é um substrato desprovido de nutrientes (Quadro 1). Esse ganho de peso pode ser verificado pela presença de folhas, pelo aumento significativo de três vezes mais raízes secundárias e pelo comprimento da raiz principal.

Essa grande diferença apresentada pelos substratos pode ser explicada pela disponibilidade imediata de uma fonte de carbono, a sacarose, e ao meio nutritivo utilizado para germinação, que contém a metade da concentração de sais e vitaminas utilizadas para a cultura de células, tecidos e órgãos de plantas (11). Deve-se também levar em consideração que a germinação de sementes *in vitro* possibilita a obtenção de explantes com excelente estado fitossanitário e fisiológico, sem sintomas de deficiência nutricional ou hídrica (4), e que, em relação ao algodão, o meio MS fornece as substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos que controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro* (11).

Bertoni et al. (2), em estudos sobre a viabilidade de diásporos e sementes de calêndula, obtiveram excelentes resultados para germinação a 28°C, sob luz contínua. Nos resultados deste trabalho, comprovou-se que esta mesma porcentagem pode ser obtida com um fotoperíodo de 16 horas de luz, o que está de acordo com as Regras para Análise de Sementes (3), que recomendam 8 a 16 horas de luz para as sementes fotoblásticas positivas. No caso de sementes de calêndula, é inviável a germinação *in vitro*, na ausência de luz.

QUADRO 1 - Desenvolvimento inicial de plântulas de calêndula aos 15 dias após a germinação em substrato de algodão e em meio MS/2

Tratamentos	Germinação (%)	Peso médio (g)	Nº médio de raízes	Comprimento médio de raízes (mm)	Nº médio de folhas
Algodão	100	0,060B	1,70B	16,00B	0,00B
MS/2	100	0,199A**	5,20A*	51,20A*	1,80A**

** e * indicam que as médias diferem a nível de 1% e 5%, pelo teste F, respectivamente.

REFERÊNCIAS

- BERTONI, B.W. Propagação clonal e gâmica de *Calendula officinalis* L. Jaboticabal, Universidade do Estado de São Paulo, 1999. 77p (Tese de mestrado).
- BERTONI, B.W.; DAMIÃO FILHO, C.F.; MORO, J.R.; PEREIRA, A.M.S. & FRANÇA, S. C. Estudo da viabilidade dos diásporos de *Calendula officinalis*. In: Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 15º, Águas de Lindóia, 1998. Anais, UNESP 1998, p. 181.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. Regras para análises de sementes, Brasília, SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.
- HU, C.Y. & WANG, P.J. Meristem shoot tip and bud culture. In: Evans, D.A.; Sharp, W.R.; Ammirato, P.V. & Yamada, Y. (eds.). Handbook of plant cell culture : techniques for propagation and breedings. New York, Macmillan, 1983. V.1, p. 177-227.
- MING, L.C. Extrativismo compromete abastecimento de plantas medicinais. Unesp Rural, nº 19: 6-9, 2000.
- MONTANARI JR., I. Aspectos do cultivo comercial de calêndula. Agroecologia Hoje, nº 2: 24-5, 2000.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. Revised medium for rapid growth and bioassaus with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15: 473-97, 1962.
- PEREIRA, A.M.S. Biotecnologia de plantas medicinais. Horticultura Brasileira, 18: 55-6, 2000.
- SCHEFFER, M.C. Recomendações técnicas para o cultivo das plantas medicinais selecionadas pelo projeto de fitoterapia do SUDS/Paraná. Curitiba, Fundação Caetano Munhoz da Rocha, 1989. 50p.
- SILVA, I.; FRANCO, S.L.; MOLINARI, S.L.; CONEGERO, C.I.; MIRANDA, M.H.; CARDOSO, M.L.C.; SANT'ANA, D.M.G. & IWANKO, N.S. Noções sobre o organismo humano e utilização de plantas medicinais. 18ª ed. Cascavel, Educativa, 1995. 203p.

11. TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. & BUSO, J. A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília, Embrapa, Serviço de Produção de Informação, 1998. V. 1, 509p.
12. VIEIRA, M.C.; HEREDIA Z., N.A. & AMORIM, P.Q. Produção de biomassa de calêndula em função de tipos de diásporos e de cama de aviário. Horticultura Brasileira, 18: 980-1, 2000.