

EFEITO DE EXTRATOS VEGETAIS SOBRE O ENRAIZAMENTO DE *Stevia rebaudiana* CULTIVADA *IN VITRO*

Felipe Cichetti Mokwa (PIBIC/CNPq/UEM), Sandra Aparecida de Oliveira Collet (Orientadora). E-mail: saocollet@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Genética / Genética Vegetal.

Palavras-chave: Frutanos; Micropropagação; Auxina

RESUMO

A *Stevia rebaudiana* é uma planta conhecida pela sua capacidade de produção de adoçantes, mas ela também é capaz de produzir outros compostos de interesse, como os frutanos, em suas raízes. Objetivando uma produção em hidroponia dessas raízes essa pesquisa foi realizada visando encontrar uma alternativa natural e barata para as auxinas sintéticas, explorando os extratos naturais de tubérculos de tiririca e lentilhas. Para tal, foi feita a micropropagação *in vitro* testando diferentes concentrações dos extratos para determinar as condições ideais para aumentar a biomassa das raízes. Apesar dos resultados de indicarem uma tendência para o extrato de tiririca na concentração de 1,0% ser o melhor tratamento, não houve significância estatística.

INTRODUÇÃO

A *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni é uma planta da família Asteraceae, nativa da América do Sul e mundialmente conhecida pela produção de glicosídeos de esteviol, um adoçante natural não calórico obtido a partir de suas folhas (Moraes *et al.*, 2013). Estudos recentes desenvolvidos no Laboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais e Sintéticos da Universidade Estadual de Maringá demonstraram que as raízes de *S. rebaudiana* são fontes promissoras para obtenção de frutanos (Lopes *et al.*, 2017). Os frutanos representam um dos polissacarídeos de reserva mais abundantes encontrados naturalmente em uma grande variedade de plantas e em bactérias. Os frutanos apresentam inúmeras aplicações tecnológicas nutricionais como fibra dietética e prebiótica, dentre alguns benefícios estão a prevenção de doenças como infecções gastrointestinais e respiratórias, a redução do câncer colorretal, a melhoria da flora intestinal, o combate da obesidade, das doenças cardiovasculares e do diabetes tipo II (Espinosa-Andrews *et al.*, 2021). O presente projeto visa realizar a micropropagação de plantas de *S. rebaudiana* com grande biomassa de raízes, para isso foram testados extratos vegetais com potencial enraizante. Posteriormente, os resultados obtidos na cultura *in vitro* serão utilizados para produção de raízes em maior escala no sistema hidropônico com um tempo de cultivo de 45-60 dias.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para indução de raízes os segmentos caulinares de plântulas de *S. rebaudiana* cultivadas *in vitro* foram transferidos para frascos contendo meio de cultura. O meio de cultura utilizado foi o MS (Murashige; Skoog, 1962) diluído na proporção 1/3 da concentração original, suplementado com os extratos vegetais indutores de enraizamento, ágar 0,8% (w/v), 30 g.L⁻¹ de sacarose e o pH ajustado para 5,6 a 5,8. Os frascos contendo os explantes foram mantidos sob um fotoperíodo de 14 horas de luz e 10 h no escuro, na temperatura de 28 ± 1 °C. Na primeira etapa do projeto foram testadas as concentrações de zero; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0% para os extratos de tiririca e de lentilha, enquanto que na segunda foram testadas apenas as concentrações de 0,8 e 1,0% de extrato de tiririca. Para avaliar o efeito dos extratos vegetais foram realizadas avaliações do peso seco das raízes. Na primeira etapa as avaliações ocorreram com 60, 80 e 120 dias de cultivo, e na segunda com 40, 60 e 80 dias de cultivo. Na primeira etapa foram usadas: 3 plântulas por frasco, 6 frascos por tratamento e foram avaliados 3 tempos de crescimento, totalizando 108 plântulas avaliadas. Na segunda etapa foram usadas: 4 plântulas por frasco, 12 frascos por tratamento, 2 tratamentos e 2 controles; e foram avaliados 3 tempos de crescimento, totalizando 192 plântulas avaliadas. As Análises estatísticas foi feita com a plataforma PAST (Hammer *et al.*, 2001) e com Microsoft Excel Versão 2008 (build 013127.20408).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os gráficos abaixo mostram os resultados obtidos, na primeira etapa do projeto, para peso seco de raízes tratadas com os extratos vegetais.

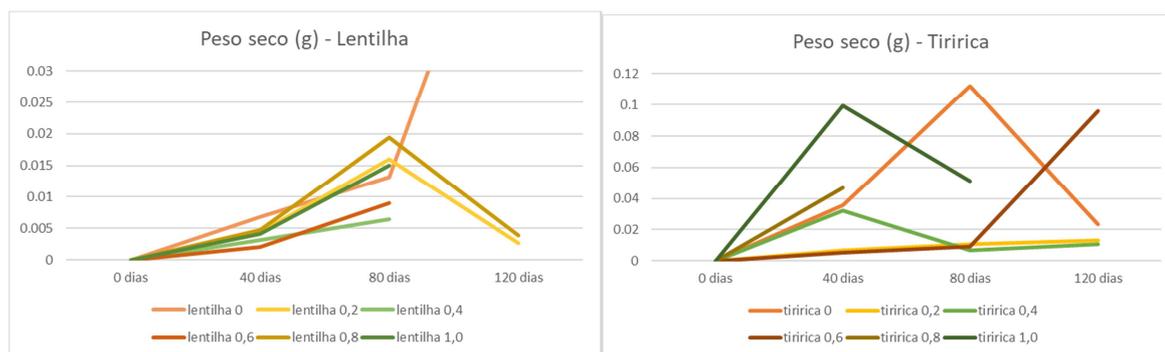


Figura 1 - Gráficos com os dados de peso seco (g) de raízes de plantas de *Stevia rebaudiana* cultivadas em meio MS com extrato de lentilha (A) e com extrato de tiririca (B), durante 40, 80 e 120 dias.

Os dados apresentados nos gráficos da Figura 1 foram submetidos a um teste de normalidade de Shapiro-Wilk e este confirmou que os dados não eram paramétricos, em seguida foi feito um teste de Kruskal-wallis que acusou não haver

diferença significativa entre os tratamentos. Em ambos os tratamentos foi constatado que quanto maior a concentração de extrato, maior o peso seco das raízes, ou seja, concentração e peso seco são diretamente proporcionais. E que apesar de não significativos, os resultados obtidos com extrato de tiririca foram mais promissores. Por essa razão, na segunda etapa do projeto, foram escolhidas as concentrações de 0,8 e 1,0% de extrato de tiririca para o cultivo de um maior número de plantas.

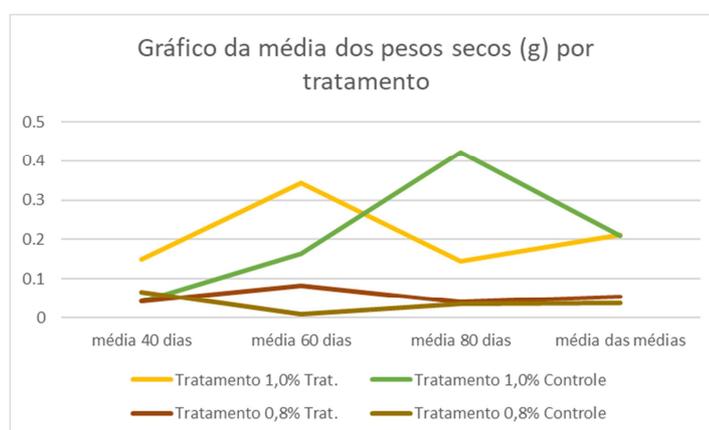


Figura 2 - Gráfico com as médias dos dados de peso seco (g) de raízes de plantas de *Stevia rebaudiana* cultivadas em meio MS com extrato de tiririca e controle, durante 40, 60 e 80 dias.

Os dados médios de peso seco das raízes apresentados no gráfico da figura 2 mostram que o tratamento com extrato de tiririca na concentração de 1,0% superou o tratamento de 0,8% em todos períodos avaliados. Aos 40 dias de cultivo o extrato de tiririca a 1% superou em mais de 3 vezes a 0,8% e o controle, aos 60 dias mais de 4 vezes a 0,8% e mais de 2 vezes o controle e aos 80 dias mais de 3 vezes a 0,8%.

O teste de Shapiro-wilk determinou que os dados obtidos na segunda etapa do projeto não são paramétricos e o teste de Kruskal-wallis não indicou relevância estatística para um valor $p \leq 0,05$; apenas para $p \leq 0,2$. Os resultados obtidos nas duas etapas indicam que o tratamento com extrato de tiririca a 1% foi o melhor para o enraizamento das plantas de *S. rebaudiana*, apesar das análises estatísticas não demonstrarem diferenças significativas entre os tratamentos.

CONCLUSÕES

Apesar das análises estatísticas não apresentarem diferenças significativas entre os tratamentos, os resultados obtidos neste projeto indicam que o extrato vegetal obtido de tubérculos de tiririca foi mais eficiente para o enraizamento de segmentos caulinares de *S. rebaudiana*. E que a concentração de 1,0% do extrato de tiririca foi a melhor para o desenvolvimento das raízes.

A pequena quantidade e a fragilidade das plantas usadas como amostras podem ter contribuído para a baixa confiabilidade dos resultados. Sendo assim, é necessário

um estudo com maior quantidade e qualidade das amostras para confirmar o potencial enraizante do extrato de tiririca.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pela bolsa concedida e ao Laboratório de Biotecnologia Vegetal da UEM pela oportunidade de desenvolver este projeto.

REFERÊNCIAS

ESPINOSA-ANDREWS, HUGO; URÍAS-SILVAS, JUDITH ESMERALDA; MORALES-HERNÁNDEZ, NORMA . The role of *Agave* fructans in health and food applications: A review. **Trends in Food Science & Technology**. v. 114, p. 585-598, August, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224421003964?via%3Dihub>. Acesso em: 05 setembro 2023.

LOPES, S. M. S.; KRAUSOVÁ, G.; CARNEIRO, J. W. P.; GONÇALVES, J. E.; GONÇALVES, R. A. C.; OLIVEIRA, A. J. B. A new natural source for obtainment of inulin and fructo-oligosaccharides from industrial waste of *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Food Chemistry**, v. 225, p. 154-161, June, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814616321306?via%3Dihub>. Acesso em: 05 setembro 2023.

MORAES, R. M.; DONEGA, M. A.; CANTRELL, C.L.; McCHESNEY, J.D. Effect of harvest timing on leaf production and yield of diterpene glycosides in *Stevia rebaudiana* Bert: A specialty perennial crop for Mississippi. **Industrial Crops and Products**. v. 51, p. 385-389. November, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669013005360>. Acesso em: 05 setembro 2023.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. A revised medium for a rapid growth and bioassays with tobacco tissues cultures. **Plant Physiology**, v.15, p. 473-479, July, 1962. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>. Acesso em: 05 setembro 2023.

HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T. & RYAN, P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Paleontologia Electronica**,4(1): 9pp, May, 2001. Disponível em: https://palaeo-electronica.org/2001_1/past/past.pdf. Acesso em: 05 setembro 2023.