

# *Lippia* (Verbenaceae) da Cadeia do Espinhaço, MG: citogenética, propagação e fitoquímica

- *Lippia*:
  - um dos principais gêneros de Verbenaceae dos Campos Rupestres
  - principal centro de diversidade específica na Cadeia do Espinhaço
  - especialista
  - problemas taxonômicos
  - riscos de extinção
  - potencial para bioprospecção farmacológica



- Coletas:

- populações:

- concentradas e restritas(endemismo)

- acompanhamento da fenologia e produção de óleos essenciais

- cinco coletas (épocas seca e úmida)

- Serra do Cipó:

- » *Lippia hermannioides*, *L. sidoides*, *L. florida*. *Lippia hermannioides*, *L. sidoides* e *L. florida*.

- Serro-Diamantina:

- » *Lippia rotundifolia*, *Lippia rosella*, *Lippia lupulina*, *L. diamantinensis* e *L. pseudo-thea*

- Ouro Branco, Belo Vale, Moeda:

- » *Lippia sidoides*, *Lippia hermannioides*, *Lippia rotunfolia*, e *Lippia microphylla*.

- material coletado:

- xilopódios (torrão), ramos (podados no local), sementes e botões florais
    - “voucher” - incorporados ao herbário CESJ (ICB/UFJF)

Tabela 2 – Espécies de *Lippia* da Cadeia do Espinhaço em floração em duas épocas do ano

Espécie	Período Seco	Período Chuvoso
<i>L. alba</i>		X
<i>L. corymbosa</i>		X
<i>L. diamantinensis</i>		X
<i>L. filifolia</i>		X
<i>L. florida</i>	X	
<i>L. hermannioides</i>		X
<i>L. lupulina</i>		X
<i>L. microphylla</i> *		
<i>L. pholiana</i>	X	
<i>L. pseudothea</i>	X	
<i>L. rosella</i>	X	
<i>L. rotundifolia</i>	X	
<i>L. sidoides</i>		X

\* - os poucos indivíduos encontrados não foram suficientes para se determinar época de floração

- transporte: três dias de viagem de volta (Serra do Cipó)
- transplântio:
  - Estação experimental de Botânica/ICB/UFJF
    - substrato: areia, solo, esterco bovino curtido
    - irrigação periódica
    - retirada de folhas secas e podas













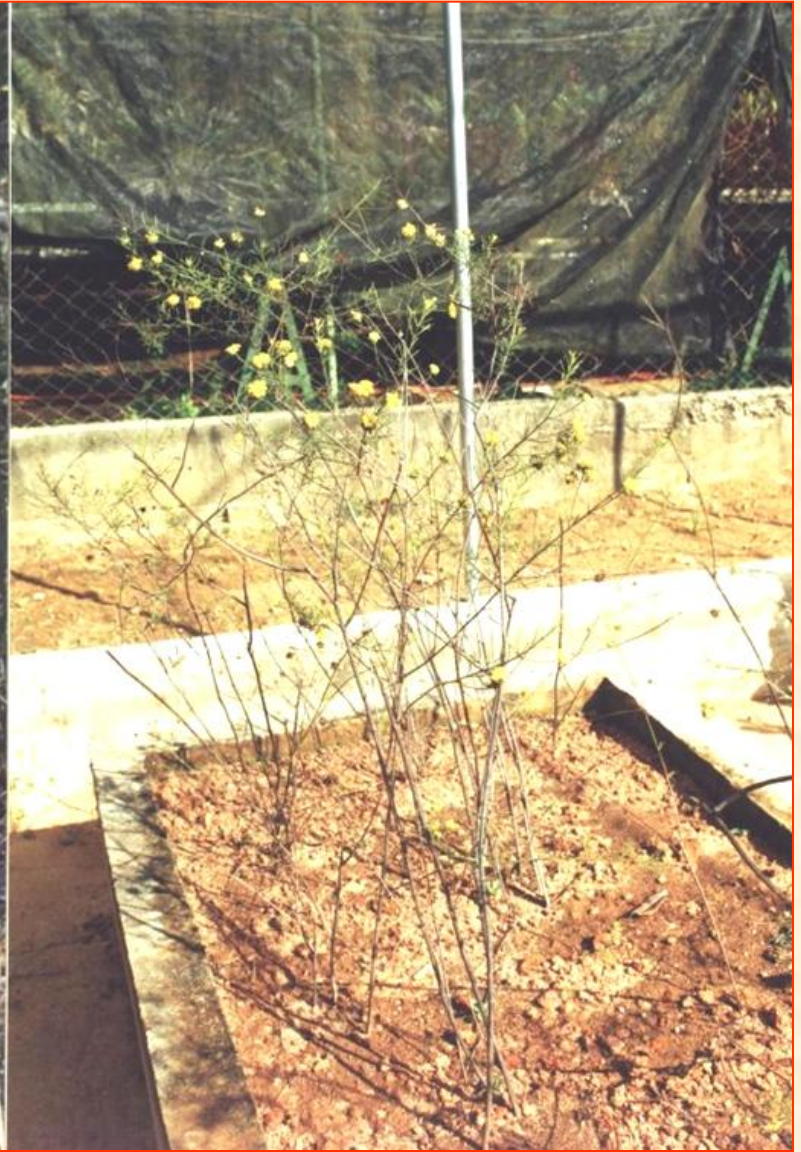




















- **Fitoquímica:**

- identificação de alcalóides, flavonóides, taninos, saponinas, cumarinas, antraquinonas e glicosídeos cardiotônicos
- óleos essenciais:
  - hidrodestilação
  - cromatografia em camada delgada
  - CG/MS



## Percentagem de óleo e de resíduos secos obtidos *in vitro* *L. filifolia*

ANA (nmol L <sup>-1</sup> )	BAP (μmol L <sup>-1</sup> )	Óleo Essencial (%)	Resíduo Seco (%)
0	0	2,1	27,8
5,4	0	2,4	30,6
54	0	2,2	25,6
540	0	2,3	29,7
0	1,5	3,8	26,7
5,4	1,5	1,5	23,1
54	1,5	2,1	29,1
540	1,5	2,1	34,2
0	3	2	25,1
5,4	3	1,5	28,8
54	3	3,8	41,9
540	3	2,7	26,8
0	4,5	3,5	28,5
5,4	4,5	1,7	24,5
54	4,5	4,8	33,7
540	4,5	3,2	23,4

- Propagação:

- enraizamento *in vivo*:

- AIB: método da imersão lenta
    - material mantido sobre hidroponia, fotoperíodo e temperatura
    - Após 20 dias → número e comprimento das raízes

- enraizamento :

- » *L. alba*, *L. filifolia*, *L. hermanioides*, *L. microphylla*, *L. rosella* e *L. sidoides* (época úmida)

- » *L. rotundifolia* não enraizou bem em nenhuma das épocas

- » *L. alba* e *L. hermanioides* enraizaram bem nas duas épocas avaliadas.

- promoção AIB:

- » *L. alba*, *L. filifolia*, *L. rosella* e *L. sidoides*

- quimiotipos de *L. alba*:

- » promoção do AIB sem diferenças





<b>Primeiro experimento</b>					
<b>AIB (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b><i>L.alba</i></b>	<b><i>L. filifolia</i></b>	<b><i>L. hermanioides</i></b>	<b><i>L. microphylla</i></b>	<b><i>L. rosella</i></b>
0	18,4 (3,7)	0	6 (0,5)	0	0
25	23,9 (3,8)	12 (2,7)	11,9 (1,3)	9,5 (1,4)	0
50	35,4 (3,9)	9,5 (1,1)	7,3 (2,0)	9,3 (1,1)	0
75	54,5 (3,2)	22 (1,0)	4 (0,5)	4 (0,3)	10 (0,5)
100	18,4 (3,7)	0	0	0	10 (0,5)

<b>Segundo experimento</b>					
<b>AIB (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b><i>L.alba</i></b>	<b><i>L. filifolia</i></b>	<b><i>L. hermanioides</i></b>	<b><i>L. microphylla</i></b>	<b><i>L. rosella</i></b>
0	2,13 (1,04)	-	0	0	-
15	18,25 (1,63)	-	17,9 (2,44)	0	-
30	19,25 (1,33)	-	13,5 (1,99)	0	-
45	17,75 (1,15)	-	0,75 (0,5)	3 (0,88)	-
60	18,63 (1,20)	-	1,5 (1,79)	0	-

<b>AIB (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b><i>Quimiotipo UFJF</i></b>	<b><i>Quimiotipo I</i></b>	<b><i>Quimiotipo II</i></b>	<b><i>Quimiotipo III</i></b>
0	2,13 (1,04)	21,38 (1,58)	23,75 (0,61)	13,25 (1,64)
15	18,25 (1,63)	41 (1,25)	56,75 (0,62)	37,25 (1,22)
30	19,25 (1,33)	30,6 (1,79)	46,5 (0,33)	29,5 (1,3)
45	17,75 (1,15)	36,75 (1,17)	38,38 (0,36)	35 (1,18)
60	18,63 (1,20)	40,88 (1,26)	44,38 (0,62)	21,63 (1,56)





- Germinação:

- coleta dos frutos e beneficiamento
- produção de sementes variada
  - *L. rotundifolia* x *L. florida*
- manutenção em sala de crescimento e BOD
  - fotoperíodo de 16 h, temperatura 30/25 °C
  - qualidade da luz
  - GA<sub>3</sub>
  - desinfestação + nistatina













*L. corimbosa*

*L. filifolia*

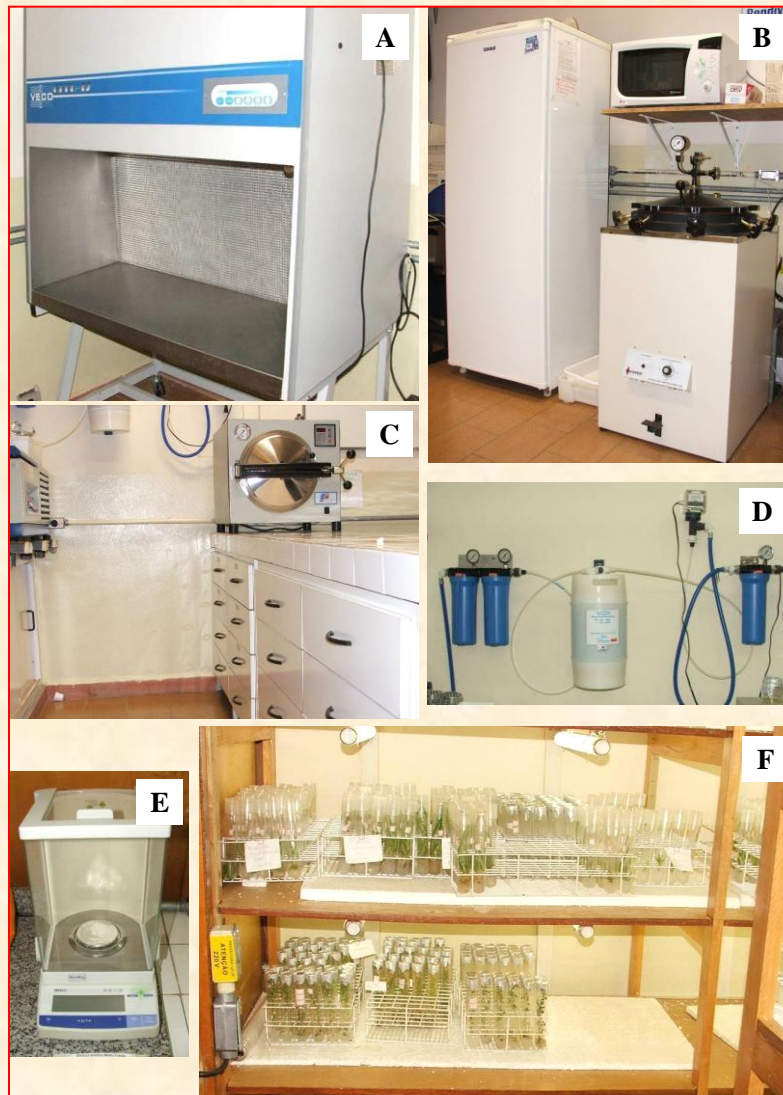
*L. alba*



Sementes armazenadas										
GA <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	<i>L.alba</i>	<i>L.corymbosa</i>	<i>L.diamantinensis</i>	<i>L.filifolia</i>	<i>L.florida</i>	<i>L.hermanioides</i>	<i>L.lupulina</i>	<i>L.microphylla</i>	<i>L.rosella</i>	<i>L.rotundifolia</i>
0	12,5	44	29,5	80	0	0	0	40	0	40
30	12,5	27,6	63	90	25	5	0	50	0	8,3
60	12,5	23,1	34,8	50	0	20	0	25	0	5
90	5	7,8	31,8	30	0	10	0	35	0	5
Total	10,6	25,2	40	62,5	7,1	8,7	0	37,5	0	17,7
Sementes novas										
0	-	50	-	18,75	16	-	0	60	18,75	31,55
30	-	50	-	25	0	-	0	-	-	37,5
60	-	50	-	18,75	0	-	0	-	-	50
90	-	58,3	-	12,5	0	-	0	-	-	50
Total	-	52,3	-	18,75	0,01	-	0	-	-	42,18

Faixa Espectro Visível	<i>L. rotundifolia</i>					<i>L. filifolia</i>					<i>L. sidoides</i>				
	GA <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )														
	0	30	60	90	Total	0	30	60	90	Total	0	30	60	90	Total
Escuro	2,5	0	0	7,5	2,5	72,5	40	32,5	62,5	51,3	55	45	60	55	53,75
Luz branca	27,5	2,5	17,5	12,5	13,8	25	27,5	27,5	30	28,75	60	95	80	95	82,5
Filtro vermelho	35	35	15	12	23,8	50	32,5	35	20	34,4	75	70	70	85	75
Filtro vermelho distante	17,5	15	10	10	13,75	35	32,5	37,5	37,5	36,87	70	80	45	55	62,5
Filtro azul	10	20	20	2,5	13,1	37,5	20	32,5	32,5	30,6	60	80	70	65	68,75

## Cultura de Tecidos (micropropagação)



Detalhes das instalações e dos principais equipamentos encontrados em um laboratório de cultura de tecidos: A - *Câmara de Fluxo laminar*: equipamento onde as manipulações do material vegetal são feitas de maneira asséptica; B - *Geladeira*: utilizada na conservação de reagentes e de soluções estoque; *Forno de microondas*: utilizado para a fusão de ágar; e *Autoclave vertical*: utilizado para esterilização de meio de cultura e materiais em geral; C - Bancada e *Autoclave horizontal*; D - *Deionizador de água*: empregado na purificação da água (destilador também pode ser utilizado); E - *Balança analítica*: fundamental para as pesagens precisas dos reagentes; F - Vista parcial das prateleiras da *Sala de crescimento*, onde as culturas são mantidas sob temperatura e fotoperíodo controlados. Outros equipamentos não apresentados na figura como, por exemplo, pHmetro, agitador magnético, freezer, computador, etc, também são importantes para o funcionamento do laboratório.



- **Propagação *in vitro*:**

- estabelecimento: meio “MS”
  - desinfestação, controle oxidação fenólica, antibióticos
- multiplicação:
  - combinação ANA e BAP
- enraizamento:
  - ANA
- aclimatação:
  - substrato Plantmax®

- **Resultados:**

- oxidação fenólica:
  - PVP
- antibióticos
  - Benomyl + cloranfenicol

- multiplicação das brotações:
  - efeitos ANA e BAP
  - maiores taxas de multiplicação com aumento da concentração de BAP
  - na ausência de BAP, melhor multiplicação na ausência de ANA
  - até 25 brotações por explante
- enraizamento:
  - 100% de enraizamento
  - ANA aumentou significativamente enraizamento sem diferenças muito intensas entre tratamentos
  - melhor faixa de 0,11 a 0,22  $\mu\text{moles L}^{-1}$



*L. alba*



*L. diamantiniensis*



*L. filifolia*





*L. hermanioides*



*L. lupulina*



*L. microphylla*





*L. rosella*



*L. rotundifolia*



*L. sidoides*





*L. filifolia*





*L. rotundifolia*



*L. hermannioides*





*L. lupulina*





*L. diamantinensis*



- **Conclusões:**

- cultura de tecidos ferramenta fundamental preservação recursos genéticos de espécies ameaçadas de extinção nos Campos Rupestres (modelo para outras espécies)
- citogenética ferramenta importante para taxonomia e fisiologia, explicando estratégias de reprodução, endemismos, cruzamentos inviáveis, baixa germinabilidade de sementes, etc
- fitoquímica grande potencial não apenas pelo perfil químico favorável à bioprospecção (característico da família), quanto pela possibilidade utilização da cultura de tecidos para a produção *in vitro* de princípios ativos