

UTILIZAÇÃO DO ÁCIDO GIBERÉLICO NO ENRAIZAMENTO E ALONGAMENTO DE PLÂNTULAS DE *Peperomia stroemfeltii* Dahlst.

Aline dos Santos Bergamin, Ana Luiza Assis Semonato, Loren Cristina Vasconcelos, Mayla Bessa Scotá, Gustavo Fernandes Mariano, Elias Terra Werner, Milene Miranda Praça Fontes.

Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, S/N Guararema, 29500-000 - Alegre-ES, Brasil, alinebergamin258@hotmail.com, alassissemonato@gmail.com, lorenvasconcelos@hotmail.com, mayla_scotta@hotmail.com, gustavo123mariano@hotmail.com, elias.werner@ufes.br, milenemiranda@yahoo.com.br.

Resumo

O gênero *Peperomia* é apreciado por seu valor ornamental e bioativo, e o Brasil é o quarto país em número de espécies desse gênero. No entanto, pesquisas sobre espécies como a *P. stroemfeltii* são limitadas, principalmente devido a distribuição restrita de populações naturais e o tamanho reduzido das plantas. Este estudo desenvolveu um protocolo de alongamento para *P. stroemfeltii*, em que plântulas inteiras foram obtidas a partir da desinfestação e inoculação de segmentos nodais, cultivados em meio MS com 6-Benzilaminopurina. Para o alongamento e enraizamento, essas plântulas foram submetidas a diferentes concentrações de ácido giberélico (GA₃). A concentração de 2,0 mg L⁻¹ de GA₃ proporcionou o maior crescimento aéreo das plântulas, e não houve diferença significativa entre os tratamentos para o enraizamento.

Palavras-chave: Cultivo *in vitro*. Micropropagação. Peperomias.

Área do Conhecimento: Fisiologia.

Introdução

A família Piperaceae está entre as oito famílias de angiospermas basais mais representativa em número de espécies, e foi descrita por Paul Dietrich Giseke em 1972, incluindo cerca de 36% de todas as espécies basais (Stevens, 2017). Dentre os gêneros da família Piperaceae, tem-se *Peperomia* Ruiz & Pav, que é utilizado com interesse ornamental e fonte de bioativos, através de extratos etanólicos e óleos essenciais (De Souza *et al.*, 2018; Djudla *et al.*, 2023; Gotz *et al.*, 2023).

O Brasil possui uma grande diversidade de *Peperomia* com cerca de 169 espécies, distribuídas em todo território nacional, ocupando o quarto lugar em riqueza de espécies de *Peperomia* no mundo. Aproximadamente 111 espécies são atualmente consideradas endêmicas (De Moura *et al.*, 2022) e a Floresta Atlântica se destaca por ser o domínio mais rico, com cerca de 75% de todas as espécies documentadas para o Brasil (Flora do Brasil, 2024). No Espírito Santo são encontradas 55 espécies de *Peperomia* (Flora do Brasil, 2024), que estão distribuídas por todo estado em regiões de fragmentos de Floresta Atlântica e unidades de conservação.

São espécies predominantemente epífitas, que podem ser encontradas em fendas de rochas ou no solo, e ocorrem preferencialmente em locais úmidos e sombreados, sendo menos frequente em matas secas e vegetações campestres (Abad-Franch e Gurgel-Gonçalves, 2021). Apresentam potencial para aplicações na indústria agroquímica e farmacêutica (Ooka *et al.*, 2022; Alam *et al.*, 2021; Moraes e Kato, 2021; Mostacero *et al.*, 2021), são amplamente utilizadas como plantas ornamentais (Ware *et al.*, 2022), e algumas participam de ecossistemas únicos chamados “Jardins de Formigas” - compostos por interações entre formigas e epífitas (Morales-Linares *et al.*, 2021; Pereira *et al.*, 2021).

Apesar da vasta fonte de bioativos que podem ser explorados pela comunidade científica, a obtenção de exemplares do gênero, durante um período prolongando é um dos fatores que inviabilizam os estudos a serem desenvolvidos, considerando que em períodos de seca, ocorre redução da população no campo. Diante desta demanda, a cultura de tecidos vegetais se torna uma ferramenta promissora, permitindo a multiplicação em grande escala de indivíduos em um espaço/tempo reduzido, além de possibilitar a obtenção de plântulas livres de patógenos, permitindo o armazenamento a longo prazo do germoplasma.

Apesar de possuir elevada riqueza e potencial de aplicação, estudos utilizando a espécie *P. stroemfeltii* Dahlst ainda são escassos. Diante disso, o objetivo deste trabalho é a obtenção de um protocolo de alongamento e enraizamento vegetal *in vitro* para *P. stroemfeltii*, encontrada em um fragmento de Floresta Atlântica, visando contribuir com informações científicas sobre a espécie.

Metodologia

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias (CCAEE) da Universidade Federal do Espírito Santo. Foram utilizados como explantes para introdução *in vitro*, segmentos nodais de *P. stroemfeltii*, coletados no Parque Estadual Forno Grande, localizado no município de Castelo-ES.

Os explantes foram desinfestados em câmara de fluxo laminar, utilizando uma solução de álcool 70% (v/v) por 1 minuto, seguido por hipoclorito de sódio 50% (v/v) por 20 minutos. Após a desinfestação os explantes foram lavados três vezes com água destilada autoclavada. Utilizou-se o meio de cultura basal MS (Murashige e Skoog, 1962), acrescido de 30 g/L de sacarose e 7 g/L de ágar, suplementado com 2,5 mg/L de 6-Benzilaminopurina (BAP).

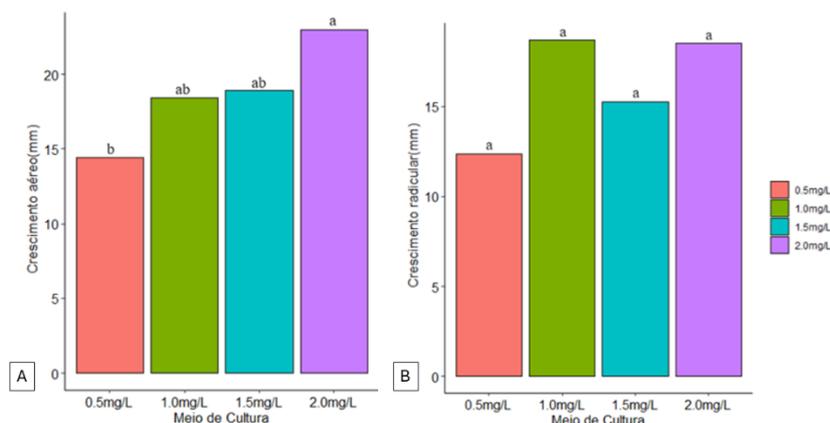
As plântulas obtidas a partir da introdução *in vitro*, foram introduzidas no meio MS suplementado com ácido giberélico (GA₃) nas concentrações 0,5 mg/L, 1,0 mg/L, 1,5 mg/L e 2,0 mg/L. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 8 frascos contendo 2 plantas cada. Após 40 dias foram avaliados comprimento aéreo e comprimento radicular. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e os valores médios ao Teste de Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando o software R, versão 4.0.0 (R Core Team 2020).

Todos os meios utilizados tiveram o pH ajustado para $5,8 \pm 1$ e foram autoclavados a 121°C por 20 minutos. O material vegetal inoculado foi mantido na sala de crescimento com temperatura a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, e fotoperíodo de 8 horas escuro e 16 horas de luz branca fluorescente com $25,2 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de fluxos de fótons fotossintéticos.

Resultados

As plântulas inoculadas em meio MS suplementado com 2,0 mg/L de GA₃ apresentaram maior crescimento aéreo médio (Figura 1A), comparado aos demais tratamentos. No presente estudo, o crescimento aéreo médio aumentou proporcionalmente ao aumento na concentração de GA₃. Os resultados obtidos para o crescimento radicular, permitem concluir que não houve diferença significativa entre as diferentes concentrações de GA₃ (Figura 1B).

Figura 1. Crescimento aéreo (A) e radicular (B) de plântulas de *P. stroemfeltii* submetidas ao meio MS com diferentes concentrações de ácido giberélico (GA₃). Barras seguidas por letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$).



Fonte: a autora.

Discussão

Dentre os fitorreguladores passíveis de utilização na micropropagação, o ácido giberélico é uma das mais importantes giberelinas que pode promover um aumento na divisão celular, tendo como efeito fisiológico, a indução ao alongamento dos brotos, favorecendo a propagação *in vitro* (Belić *et al.*, 2020). E nas últimas duas décadas, o papel da biossíntese e sinalização de ácido giberélico na regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas foi caracterizado utilizando plantas mutantes (Nagai *et al.*, 2020). Entretanto, a base molecular de como o GA₃ promove o alongamento celular permanece obscura.

As giberelinas desempenham um papel essencial em uma infinidade de processos de desenvolvimento das plantas, determinando a morfogênese das mesmas (He *et al.*, 2024). Um exemplo importante de se destacar é que o ácido giberélico induz a degradação da proteína “DELLA” para ativar a atividade transcricional do PIF4, promovendo assim o alongamento das células do hipocótilo de *Arabidopsis sp.* (De Lucas *et al.*, 2008).

O ácido giberélico induz processos de crescimento e desenvolvimento em plantas cultivadas, incluindo expansão celular, divisão celular, germinação de sementes, mobilização de reservas de armazenamento de endosperma, alongamento de entrenós, transição para floração, expressão sexual e desenvolvimento de frutos (Othman e Leskovar 2022). Este hormônio está ativamente envolvido em mecanismos vegetais associados à transmissão de tolerância ao estresse em plantas cultivadas, melhorando a homeostase iônica, a permeabilidade da membrana, o sistema antioxidante, o acúmulo de osmólitos e a expressão de genes de mitigação do estresse (Shah *et al.*, 2023).

Vários estudos demonstram que o GA₃ desempenha um papel importante tanto na germinação das sementes como no alongamento de brotos, sendo sugerido que a combinação de GA₃ com citocininas e auxinas, interage reciprocamente (Ahmad *et al.*, 2021). Controlando os níveis de biossíntese e de transdução de sinal, tanto de forma sinérgica quanto antagônica para modular muitos processos metabólicos de plantas (Abbas *et al.*, 2022), melhorando o crescimento vegetativo, o alongamento de raízes e caules, a biomassa vegetal e o aumento da área foliar de muitas plantas cultivadas. Essa sinergia de fitohormônios e a interdependência da sinalização, é nomeada *crossstalk* de fitohormônios, e são onipresentes na regulação do desenvolvimento das plantas no nível unicelular (Tian *et al.*, 2022).

Conclusão

Conclui-se que o meio MS suplementado com uma concentração de 2,0 mg L⁻¹ de ácido giberélico é o mais eficiente para aumento do crescimento aéreo, e para o crescimento radicular, não houve diferença entre os tratamentos testados. Dessa forma, são necessários outros testes, até mesmo com combinação de outras classes de reguladores vegetais combinados com GA₃ para avaliar a influência no crescimento radicular.

Referências

ABAD-FRANCH, F.; GURGEL-GONÇALVES, R. The ecology and natural history of wild Triatominae in the Americas. In: Triatominae-The Biology of Chagas Disease Vectors. Cham: **Springer International Publishing**, p. 387-445, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-030-64548-9_16.

ABBAS, M.; IMRAN, F.; IQBAL KHAN, R.; ZAFAR-UL-HYE, M.; RAFIQUE, T.; KHAN, M. J.; DATTA, R. Gibberellic acid induced changes on growth, yield, superoxide dismutase, catalase and peroxidase in fruits of bitter melon (*Momordica charantia* L.). **Horticulturae**, v. 6, n. 4, p. 72, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/horticulturae6040072>.

AHMAD, A.; AHMAD, N.; ANIS, M.; ALATAR, A. A.; ABDEL-SALAM, E. M.; QAHTAN, A. A.; FAISAL, M. Gibberellic acid and thidiazuron promote micropropagation of an endangered woody tree (*Pterocarpus marsupium* Roxb.) using in vitro seedlings. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 144, p. 449-462, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01969-1>.

ALAM, M. A.; NADIRAH, T. A.; MOHSIN, G. M.; SALEH, M.; MONERUZZAMAN, K. M.; ASLANI, F.; ALAM, M. Z. Antioxidant compounds, antioxidant activities, and mineral contents among underutilized vegetables. **International Journal of Vegetable Science**, v. 27, n. 2, p.157-166, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/19315260.2020.1748785>.

BELIĆ, M.; ZDRAVKOVIĆ-KORAĆ, S.; JANOŠEVIĆ, D.; SAVIĆ, J.; TODOROVIĆ, S.; BANJAC, N.; MILOJEVIĆ, J. Gibberellins and light synergistically promote somatic embryogenesis from the in vitro apical root sections of spinach. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 142, p. 537-548, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01878-3>.

DE LUCAS, M.; DAVIERE, J. M.; RODRÍGUEZ-FALCÓN, M.; PONTIN, M.; IGLESIAS-PEDRAZ, J. M.; LORRAIN, S.; PRAT, S. A molecular framework for light and gibberellin control of cell elongation. **Nature**, v. 451, n. 7177, p. 480-484, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature06520>.

DE MOURA, C. O.; DE MELO, P. H. A.; DE AMORIM, E. T.; MARCUSO, G. M.; CARVALHO-SILVA, M. *Peperomia* (Piperaceae) endemic to Brazil: Distribution, richness, and conservation status. **Flora**, v. 297, p. 152170, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.flora.2022.152170>.

DE SOUZA, J. A.; SOUSA, Z. L. Estudo da atividade biológica do extrato etanólico da *Peperomia pellucida* (L.) Kunth. **Revista Cereus**, v. 10, n. 4, p. 147-159, 2018. Disponível em: <http://www.ojs.unirg.edu.br/index.php/1/article/view/2362>.

DLUDLA, P. V.; CIRILLI, I.; MARCHEGGIANI, F.; SILVESTRI, S.; ORLANDO, P.; MUVHULAWA, N.; TIANO, L. Bioactive Properties, Bioavailability Profiles, and Clinical Evidence of the Potential Benefits of Black Pepper (*Piper nigrum*) and Red Pepper (*Capsicum annum*) against Diverse Metabolic Complications. **Molecules**, v. 28, n. 18, p. 6569, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules28186569>.

FLORA DO BRASIL 2024, em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/PrincipalUC/PrincipalUC.do;jsessionid=8FE585113F9BB5C941DCA14B28A6A027>.

GÖTZ, M. E.; EISENREICH, A.; FRENZEL, J.; SACHSE, B.; SCHÄFER, B. Occurrence of Alkenylbenzenes in Plants: Flavours and Possibly Toxic Plant Metabolites. **Plants**, v. 12, n. 11, p. 2075, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants12112075>.

HE, P.; ZHU, L.; ZHOU, X.; FU, X.; ZHANG, Y.; ZHAO, P.; XIAO, G. Gibberellin acid promotes single-celled fiber elongation through the activation of two signaling cascades in cotton. **Developmental Cell**, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2024.01.018>.

MORAES, M. M.; KATO, M. J. Biosynthesis of Pellucidin A in *Peperomia pellucida* (L.) HBK. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 641717, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.641717>.

MORALES-LINARES, J.; FLORES-PALACIOS, A.; CORONA-LÓPEZ, A. M.; TOLEDO-HERNÁNDEZ, V. H. Diversity and interactions of the epiphyte community associated with ant-gardens are not influenced by elevational and environmental gradients. **Journal of Vegetation Science**, v. 32, n. 5, p. e13076, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jvs.13076>.

MOSTACERO, N. R.; CASTELLI, M. V.; BAROLO, M. I.; AMIGOT, S. L.; FULGUEIRA, C. L.; LÓPEZ, S. N. Fungal endophytes in *Peperomia obtusifolia* and their potential as inhibitors of chickpea fungal pathogens. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 37, p. 1-16, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02954-8>.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

NAGAI, K.; MORI, Y.; ISHIKAWA, S.; FURUTA, T.; GAMUYAO, R.; NIIMI, Y.; ASHIKARI, M. Antagonistic regulation of the gibberellic acid response during stem growth in rice. **Nature**, v. 584, n. 7819, p. 109-114, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2501-8>.

OOKA, J. K.; CORREIA, M. V.; SCOTTI, M. T.; FOKOUE, H. H.; YAMAGUCHI, L. F.; KATO, M. J.; OWENS, D. K. Synthesis and Activity of 2-Acyl-cyclohexane-1, 3-dione Congeners Derived from Peperomia Natural Products against the Plant p-Hydroxyphenylpyruvate Dioxygenase Herbicidal Molecular Target Site. **Plants**, v. 11, n. 17, p. 2269, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants11172269>.

OTHMAN, Y. A.; LESKOVAR, D. I. Foliar application of gibberellic acid improves yield and head phenolic compounds in globe artichoke. **Scientia Horticulturae**, v. 301, p. 111115, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111115>.

PEREIRA, A. A.; DA SILVA, I. V.; VICENTE, R. E. Interaction between epiphytic chemical allelopathy and ant-pruning determining the composition of Amazonian ant-garden epiphytes. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 15, n. 3, p. 399-407, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11829-021-09825-5>.

TIAN, Z.; ZHANG, Y.; ZHU, L.; JIANG, B.; WANG, H.; GAO, R.; XIAO, G. Strigolactones act downstream of gibberellins to regulate fiber cell elongation and cell wall thickness in cotton (*Gossypium hirsutum*). **The Plant Cell**, v. 34, n. 12, p. 4816-4839, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/plcell/koac270>.

WARE, I.; FRANKE, K.; HUSSAIN, H.; MORGAN, I.; RENNERT, R.; WESSJOHANN, L. A. Bioactive phenolic compounds from *Peperomia obtusifolia*. **Molecules**, v. 27, n. 14, p. 4363, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules27144363>.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Espírito Santo (FAPES).