

## **Conteúdos de compostos fenólicos e flavonóides em plantas de camomila (*Matricaria recutita* L. - Asteraceae) cultivadas *in vivo* e *in vitro***

Eveline Carla da Rocha Tavano<sup>1</sup>, Armando Reis Tavares<sup>2</sup>, Massanori Takaki<sup>3</sup>,  
Giuseppina Pace Pereira Lima<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Biociências, UNESP, Univ Estadual Paulista, Departamento de Química e Bioquímica, C. P. 510, 18618-970 - Botucatu, SP, Brasil.

<sup>2</sup> Instituto de Botânica, Seção de Ornamentais, C.P. 4005, 01061-970 - São Paulo, SP, Brasil.

<sup>3</sup> Instituto de Biociências, UNESP, Univ Estadual Paulista, Departamento de Botânica, 13506-900 - Rio Claro, SP, Brazil

### **RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar o conteúdo de fenóis e flavonóides totais em camomila cultivada *in vitro*, e em plantas cultivadas no campo. Sementes de camomila foram cultivadas no campo e, por micropropagação em meio nutritivo MS. As plântulas obtidas da cultura *in vitro* foram subcultivadas em meio similar acrescido dos reguladores vegetais BAP e/ou ANA. Os teores de fenóis totais e flavonóides foram obtidos da parte aérea, raiz e calos. Os resultados mostraram que as plantas cultivadas *in vitro* na presença de BAP têm maior taxa de multiplicação. De modo geral, as plantas micropropagadas apresentaram maior conteúdo de fenóis, enquanto que as de campo apresentaram maior conteúdo de flavonóides. Conclui-se que a produção das plantas micropropagadas é viável e fornece concentração de fenóis e flavonóides próximas àquelas cultivadas no campo.

**Palavras Chave:** flavonóides, compostos fenólicos, micropropagação, *Matricaria recutita*.

### **ABSTRACT**

The aim of this work was to evaluate the phenolic and flavonoid contents in chamomile cultivated *in vitro*, and plants cultivated in the field. Seeds of chamomile were cultivated in the field and *in vitro* on MS medium. Seedling from the *in vitro* culture, were grown in similar medium with growth regulators BAP and/or NAA. The phenolic and flavonoid total contents were extracted from the aerial part, roots and calluses. The results showed that the plants cultivated *in vitro* in the presence of BAP have greater multiplication rate. In general, the micropropagated plants showed higher phenolics content. The field plants presented high content of flavonoids. The production of the micropropagated plants is viable and their phenolics and flavonoids contents were similar to values found in cultivated plants.

**Key words:** flavonoids, phenolic compounds, micropropagation, *Matricaria recutita*

## INTRODUÇÃO

O cultivo no campo, de plantas medicinais e aromáticas, torna-as sujeitas à ação de diversos fatores que afetam a diversidade química e biológica, tais como, área de cultivo, condições climáticas, fase vegetativa, modificações genéticas entre outras (Miliauskas et al., 2004). Por outro lado, no processo de cultivo *in vitro*, as condições de cultivo, os fatores nutricionais e os reguladores vegetais podem ser facilmente controlados e assim, espera-se que os teores de metabólitos secundários sintetizados por plantas micropropagadas, sejam mantidos em equilíbrio (Thiem, 2003) e

A camomila geralmente é propagada geralmente via sementes e no Brasil, foi introduzida pelos imigrantes europeus há mais de 100 anos (Ramos et al., 2004). Atualmente, é a planta medicinal com a maior área de cultivo e com o maior envolvimento de pequenos produtores rurais. Apesar disso, é considerada cultura secundária, na qual utilizam-se técnicas inadequadas de produção e de beneficiamento, que resultam em produtos de baixa qualidade (Corrêa Júnior e Taniguchi, 1992). As técnicas da cultura de tecidos podem ser aplicadas em várias espécies de acordo com diferentes objetivos. Alguns estudos sobre a micropropagação de gemas de camomila (*Matricaria recutita* L.) podem ser destacados. Hirata et al. (1996) cultivaram camomila em meio nutritivo líquido Murashige & Skoog (MS) (1962) acrescido dos reguladores vegetais BAP (6-benzilaminopurina) e ANA (ácido  $\alpha$ -naftalenoacético), nas concentrações de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 2,0 mg L<sup>-1</sup> de ANA. Concentrações menores foram usadas por Izumi et al. (1996), que promoveram a micropropagação utilizando como explantes gemas de camomila em meio líquido MS acrescido de 0,02 mg L<sup>-1</sup> de ANA e 0,2 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Estes trabalhos mostram a variação na concentração de reguladores vegetais que podem ser utilizados na micropropagação da espécie.

Diversas espécies de plantas aromáticas, condimentares, medicinais entre outras, como a camomila, contêm compostos químicos que exibem propriedades antioxidante, como os fenólicos (Zheng e Wang, 2001; Hurrell et al. 1999), que são metabólitos secundários produzidos pelas plantas e são fundamentais para o metabolismo vegetal (Strack, 1997). A camomila, usada na forma de chá de suas flores em diversos países, contém grande número de compostos fenólicos (Hurrell et al., 1999), entre eles os flavonóides.

Os flavonóides presentes na camomila podem contribuir para diversos efeitos terapêuticos, entre eles antiespasmódico, sedativo, antiulcerogenico, antimicrobiano, entre outros (Oheler et al., 2009). Estudos dos teores de fenóis e flavonóides em diversas plantas medicinais e aromáticas, entre elas flores de *M. recutita*, mostram valores de  $7,5 \pm 0,1$  mg g<sup>-1</sup> de fenóis totais e  $7,1 \pm 0,4$  mg g<sup>-1</sup> de flavonóides totais (Miliauskas et al., 2004).

Os fitoquímicos podem variar, tanto em qualidade, como em quantidade, em plantas cultivadas *in vivo* e *in vitro*, como relatado por Lucchesini et al. (2009). Assim, baseado na hipótese de que plantas cultivadas no campo ou micropropagadas podem apresentar variações nos teores de compostos do metabolismo secundário,

como os compostos fenólicos, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o conteúdo de fenóis e flavonóides em camomila cultivada *in vivo* e *in vitro*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Sementes certificadas de camomila (*M. recutita*), doadas pela EMATER, Paraná, com 95 % de taxa de germinação (testes prévios) foram cultivadas *in vivo* e *in vitro*. Para a propagação em campo, após a germinação em bandejas de plástico sem alvéolos, nas condições ambientes de viveiro de plantas, sob sombrite. O substrato para a produção das mudas foi 50% de plantimax, 25 % de solo e 25% de vermiculita. As mudas foram transplantadas ao local definitivo quando as plântulas atingiram cerca de 0,10 m de altura. O controle de plantas daninhas foi feito com auxílio de enxada e as irrigações, pelo sistema de aspersão, sempre que necessárias. Não foi utilizado nenhum agrotóxico diretamente na cultura para controle de pragas ou doenças. As coletas foram realizadas em um período programado, de modo que as épocas de coleta fossem próximas com as das plantas micropropagadas.

A cultura *in vitro* foi iniciada através da inoculação de sementes de camomila em meio básico de sais MS (Murashigue e Skoog 1962) acrescido de fonte de carbono (sacarose 30g L<sup>-1</sup>) e mio-inositol (50mL L<sup>-1</sup>), pH ajustado para 5,8 e para sua solidificação ágar (7g L<sup>-1</sup>). Antes da inoculação das sementes, o meio nutritivo (20ml por tubo) foi autoclavado a 120°C durante quinze minutos.

Para a desinfestação, as sementes foram lavadas em ambiente asséptico, com solução de álcool etílico 70% por 2 minutos, seguido de enxágüe em água destilada e esterilizada. Posteriormente, as sementes foram imersas em hipoclorito de sódio 50% (produto comercial contendo 2,5% de cloro ativo) sob agitação manual e constante durante 15 minutos, seguida de vários enxágües com água destilada e esterilizada. As plântulas com 30 dias foram subcultivadas em meio nutritivo MS acrescido dos reguladores vegetais benzilaminopurina (BAP) e ácido naftaleno acético (ANA), estabelecendo os seguintes tratamentos: MS0: controle; MS1: 1mg L<sup>-1</sup> de BAP; MS2: 1mg L<sup>-1</sup> BAP e 0,5mg L<sup>-1</sup> ANA; MS3: 0,5mg L<sup>-1</sup> ANA; MS4: 2mg L<sup>-1</sup> BAP e 2mg L<sup>-1</sup> ANA. Aos 60 dias, foi realizado novo subcultivo, para evitar oxidação e promover a troca de meio de cultivo, contendo os nutrientes essenciais para o crescimento da planta. Foram inoculados 3 explantes por frasco.

A determinação da multiplicação foi realizada durante os subcultivos, aos 30 e 60 dias após a semeadura, quando então foram transferidas para meio de cultivo para as análises bioquímicas. O comprimento foi realizado aos 65, 85 e 105 dias após a inoculação *in vitro*.

Para as análises bioquímicas (folhas), foram realizadas 4 coletas, sendo a primeira feita no dia da transferência das plântulas (45 dias após semeadura) para os tratamentos propostos, denominada estabelecimento e as demais realizadas aos 65, 85 e 105 dias após a semeadura, respectivamente. Nas plantas cultivadas no campo foram realizadas 3 coletas, aos 45, 90 e 135 dias após a semeadura. Em cada coleta e nos tratamentos, cinco plantas foram removidas aleatoriamente, sendo seus

tecidos utilizados para avaliação da taxa de multiplicação (plantas cultivadas *in vitro*), teor de fenóis totais e de flavonóides totais (plantas cultivadas no campo e *in vitro*).

A taxa de multiplicação foi realizada pela contagem do número de brotos formados e o comprimento das plantas cultivadas *in vitro* foi obtido através da medida, com régua, em cm, do colo até o ápice da planta.

A análise do teor de fenóis totais foi realizada de acordo com o método espectrofotométrico usando o reativo de Folin-Ciocalteau (Singleton e Rossi, 1965), em material seco em estufa de circulação forçada de ar até peso constante. A análise de flavonóides totais foi realizada de acordo com o método espectrofotométrico adaptado de Santos e Blatt (1998) e Awad et al. (2000) em material fresco.

A presença de flores foi notada apenas nas plantas cultivadas no campo a partir dos 90 dias após a semeadura, quando então, foram analisados fenóis totais e flavonoides totais.

Os resultados das análises bioquímicas e das análises biométricas (multiplicação e comprimento dos explantes), foram submetidos à análise de variância utilizando o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Análises biométricas

A taxa de multiplicação da camomila cultivada *in vitro* foi alterada na presença de reguladores vegetais usados (Tabela 1). A presença de BAP foi essencial para obtenção de maior número de brotações, confirmando o efeito benéfico da citocinina na multiplicação (Abrie e Van Staden, 2001).

**Tabela 1.** Número de brotações de camomila cultivada *in vitro* nos diferentes estágios de multiplicação em meio MS suplementado com BAP e ANA.

BAP (mg L <sup>-1</sup> )	ANA (mg L <sup>-1</sup> )	Estágios de multiplicação		
		Estabelecimento (inoculação em meio com reguladores)	Primeiro subcultivo (30 dias)	Segundo subcultivo (60 dias)
0,0	0,0 (MS0)	1,50 a	4,25 c	2,75 ab
1,0	0,0 (MS1)	1,75 a	8,00 b	5,00 a
1,0	0,5 (MS2)	1,75 a	10,00 b	1,50 b
0,0	0,5 (MS3)	2,00 a	1,75 c	2,75 ab
2,0	2,0 (MS4)	2,00 a	13,00 a	1,00 b

Médias seguidas da mesma letra na vertical não apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

A combinação de BAP e ANA também foi eficiente para aumento do número de brotos, como também relatado por Hirata et al. (1996) em camomila, usando as

mesmas concentrações, em meio líquido. Outros trabalhos também relataram esse efeito benéfico da combinação de citocinina e auxina, como em *Pueraria lobata*, onde a combinação de cinetina e ácido indolacético foi eficaz na indução de brotos (Thiem, 2003). Observa-se que no segundo subcultivo obteve-se menor número de brotos, o que poderia indicar que para a multiplicação *in vitro* de camomila, necessitaria de promover aumento da concentração de reguladores vegetais no meio para obtenção de maior número de plantas.

As diferentes concentrações e combinações de reguladores vegetais levaram a alterações morfológicas nos explantes. Observou-se indução de calos e formação de raízes nos diferentes tratamentos, em relação ao controle e em função do tempo.

A presença de calos foi notada 30 dias após o subcultivo nos diversos meios de cultura e aos 60 dias, todos os explantes apresentaram calos. Nas plantas cultivadas em meio contendo 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de ANA (MS3) e no controle (MS0) não se observou a formação de calos durante os 60 dias de experimento, nestas plantas foi notada apenas rizogênese.

O enraizamento começou a ser observado aos 65 dias, exceto nos tratamentos MS1 e MS2, sendo que o tratamento contendo maior concentração de BAP (MS4) induziu menor número de explantes enraizados quando comparado com os demais. Aos 85 dias, os tratamentos MS1 e MS4 não apresentaram formação de raízes, enquanto os tratamentos MS0 e MS3 apresentaram taxa máxima de enraizamento. Aos 105 dias, todos os explantes dos diversos tratamentos mostraram emissão de raízes, sendo que os tratamentos MS1 e MS4 mostraram menor número de explantes enraizados.

Os tratamentos MS1, MS2 e MS4 apresentaram além da formação de raízes, a formação de calos, porém as raízes eram pequenas e em baixo número, não permitindo uma análise visual mais detalhada, assim como análises bioquímicas destas partes, devido a pequena quantidade de massa.

Os resultados mostraram que a presença de citocinina inibiu a indução de raízes. Resultados semelhantes foram descritos por Lu (2005) em *Vitis thunbergii*, as quais apresentaram baixa taxa de enraizamento na presença de BA (Benziladenina).

A concentração de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de ANA (MS3) induziu maior comprimento em todos os períodos de observação (Tabela 2). A auxina geralmente é necessária para promover o crescimento inicial do meristema e a extremidade do broto de diferentes explantes. Baixa concentração de auxina é freqüentemente usada em combinação com altos níveis de citocinina quando a multiplicação das brotações é requerida. Concentrações altas de auxinas promovem o crescimento, sem induzir a formação de calos. Para a indução de calos é necessário ajuste nos níveis de auxinas e citocininas (Bhojwani e Razdan, 1983).

Durante o experimento não foi observada oxidação dos explantes nos meios de cultura em nenhum dos tratamentos propostos, o que pode ser atribuído aos subcultivos. A taxa de contaminação e mortalidade foi baixa, ficando restrita ao tratamento MS3 que apresentou taxa de 6,66% de contaminação e 4,44% de mortalidade, evidenciando que certamente, a assepsia utilizada foi eficiente tanto no

controle da infecção de patógenos, não causando danos oxidativos no material vegetal.

**Tabela 2.** Comprimento (cm) dos explantes de camomila micropropagada nos diferentes tratamentos em função do tempo.

	65 dias	85 dias	105 dias	Médias
MS0	1.88 b*	2,50 b	3,06 b	2.48 b
MS1	2.83 ab	2,63 b	3,37 ab	2.94 b
MS2	2.43 ab	3,32 ab	3,31 b	3.02 b
MS3	3.16 a	3,87 a	4,45 a	3.80 a
MS4	1.83 b	3,28 ab	3,31b	2.80 b
Médias	2.42 B	3.12 A	3.50 A	

\*Médias seguidas da mesma letra na vertical não apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

### Compostos fenólicos

Os fenóis totais na parte aérea (Tabela 3) de plantas de camomila cultivadas *in vitro* e no campo mostraram variações significativas entre os tratamentos e no tempo. Os maiores teores, da parte aérea, ocorreram aos 65 dias em plantas micropropagadas.

Os teores de fenóis nas raízes foram maiores nas plantas cultivadas *in vitro* se comparados com os teores encontrados nas plantas do campo (Tabela 3). Nos calos a concentração foi alta em todos os tratamentos aos 65 dias, enquanto que aos 85 dias, somente o MS2 mostrou os menores teores. Resultados semelhantes foram verificados aos 105 dias. Esses resultados demonstram que os calos são boa fonte de compostos fenólicos e indicamos estudos mais aprofundados nestes órgãos. A adição de ambos reguladores (BAP e ANA) nas maiores concentrações foi favorável à produção de fenóis em calos de camomila. Geralmente, calos têm sido utilizados como modelo para estudos de desenvolvimento de plantas e facilitam a análise de mudanças metabólicas, tais como atividade de enzimas, ação de reguladores e morfogênese (Arnaldos et al., 2001).

Nas flores das plantas cultivadas no campo os teores de fenóis totais foram aos 90 e 135 dias de 5,12 e 4,74  $\mu\text{g}$  de fenóis  $\text{mg}^{-1}$  de matéria seca, respectivamente. Santos-Gomes et al. (2003) estudando fenóis em *Salvia officinalis* cultivada *in vitro*, observaram que o maior teor de compostos fenólicos foi encontrado em calos cultivados em meio contendo 2,4-D (ácido 2,4 diclorofenóxiacético) e cinetina e interpretaram como uma consequência da menor demanda de carbono e energia, favorecendo um fluxo metabólico para produção desses compostos. Resultados semelhantes são encontrados neste trabalho, onde o teor de fenóis foi semelhante nos calos em relação às demais partes analisadas (mesmo que não analisadas estatisticamente). A sugestão dos pesquisadores pode ser ampliada para as plantas de camomila micropropagadas, pois como são cultivadas em ambiente controlado e com pouca troca gasosa (*in vitro*),

provavelmente, estaria sendo favorecida a formação de compostos fenólicos em relação aos compostos do metabolismo primário.

**Tabela 3.** Teor de fenóis totais ( $\mu\text{g mg}^{-1}$ ) nas plantas cultivadas *in vitro* (parte aérea, raiz e nos calos) e no campo (parte aérea e raiz) em função do tempo.

	Coletas			
	0**	1	2	3
<b>Parte aérea</b>				
MS0	5,07 BCa*	8,31 Abc	6,63 ABab	4,63 Cbc
MS1	5,07 Ba	9,50 Aab	5,59 Bbc	6,28 Bab
MS2	5,07 Ba	10,42 Aa	5,77 Bbc	6,14 Bab
MS3	5,07 Bca	9,89 Aab	4,42 Ccd	6,68 Ba
MS4	5,07 Ca	6,67 ABc	7,89 Aa	4,99 Cabc
Planta do campo		2,98 Ad	3,02 Ad	4,13 Ac
<b>Raiz</b>				
MS0	2,51 Da	12,32 Aa	10,29 Ba	7,47 Cb
MS3	2,51 Da	9,63 Ab	5,05 Cb	8,44 Ba
Planta do campo		1,36 Bc	3,17 Ac	2,99 Ac
<b>Calos</b>				
MS1		7,05 Ab	6,54 Aa	4,68 Ba
MS2		7,94 Aab	4,80 Bb	0,73 Cb
MS4		8,27 Aa	5,43 Bab	3,83 Ca

\*Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

\*\* 0, 1, 2 e 3 – coletas plantas cultivadas *in vitro*, aos 45, 65, 85 e 105 dias após a semeadura, respectivamente. Nas plantas cultivadas no campo, os números 1, 2 e 3 referem-se às épocas de coletas realizadas aos 45, 90 e 135 dias após a semeadura.

Outro fator que deve ser levado em conta para a alta produção de compostos fenólicos em algumas plantas é o meio contendo citocinina, como encontrado naquelas cultivadas sob efeito de BAP (MS1, MS2 e MS4) na parte aérea e nos calos. Santos-Gomes et al. (2003) também relatam aumento de compostos fenólicos em cultivadas em meio contendo citocinina, porém outros autores afirmaram que essa produção depende do tipo de citocinina utilizada (Kintzios et al., 1999). Neste trabalho, a presença de BAP foi eficiente para induzir síntese de fenólicos em camomila cultivada *in vitro*.

Ocorreu diferença significativa entre os tratamentos aos 65, 85 e 105 dias de cultivo em relação ao teor de flavonóides totais (Tabela 4) obtidos nas plantas de camomila cultivadas *in vitro* e nas plantas do campo (matriz).

Neste trabalho, o uso de auxinas (MS3) induziu maior teor de flavonóides na parte aérea, enquanto que em calos, estes resultados ocorreram no tratamento

contendo a mistura de citocinas e auxinas (MS4) na maior concentração. Cimanga et al. (2004) também notaram que a presença da mistura de auxinas e citocininas foi favorável à produção de calos e flavonóides em *Phyllanthus niruri*. Vários trabalhos na literatura mostraram a produção de metabólitos secundários, tais como os flavonóides, em plantas cultivadas *in vitro* (Pasqual et al., 2003; Dias et al., 1998) e indicaram que partes de plantas cultivadas em meio de cultura podem apresentar teores maiores que os encontrados em plantas cultivadas no campo, podendo ser utilizada como modelo para estudos fitoquímicos.

Os teores de flavonóides encontrados nas flores aos 90 e 135 dias foram de 0,581 e 0,278  $\mu\text{g}$  de flavonóides totais  $\text{g}^{-1}$ , respectivamente e foram maiores dos observados nos demais tratamentos.

Nas raízes, os teores encontrados foram menores dos verificados na parte aérea e foram analisados apenas nos tratamentos que induziram a rizogênese, isto é, no controle (MS0), no MS3 e nas plantas cultivadas no campo, as quais mostraram maiores teores de flavonóides.

**Tabela 4.** Teor de flavonóides ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) nas plantas cultivadas *in vitro* (parte aérea, raiz e nos calos) e no campo (parte aérea e raiz) em função do tempo.

	Coletas			
	0	1	2	3
<b>Parte aérea</b>				
MS0	0,24 Ba*	0,23 BCb	0,17 Cbc	0,36 Aa
MS1	0,24 Aa	0,17 Ab	0,08 Bd	0,24 Ab
MS2	0,24 Aa	0,21 Ab	0,20 Aabc	0,09 Bd
MS3	0,24 Ba	0,36 Aa	0,25 Bab	0,14 Ccd
MS4	0,24 Aa	0,18 ABb	0,13 Bcd	0,22 Abc
Planta matriz		0,18 Cb	0,26 Ba	0,33 Aa
Raiz				
MS0	0,12 Aa	0,10 Aa	0,03 Bb	0,04 Bb
MS3	0,12 Aa	0,05 Bb	0,03 BCb	0,03 Cb
Planta matriz		0,11 Aa	0,09 BCa	0,09 Ca
Calos				
MS1		0,06 Ac	0,07 Aa	0,07 Aa
MS2		0,10 Ab	0,05 Ca	0,07 Ba
MS4		0,12 Aa	0,05 Ba	0,07 Ba

\*Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

\*\* 0, 1, 2 e 3 – coletas plantas cultivadas *in vitro*, aos 45, 65, 85 e 105 dias após a semeadura, respectivamente. Nas plantas cultivadas no campo, os números 1, 2 e 3 referem-se às épocas de coletas realizadas aos 45, 90 e 135 dias após a semeadura.

Nos calos, os resultados mostraram valores baixos de flavonóides. O cultivo *in vitro* pode favorecer a produção de metabólitos secundários, por outro lado, algumas substâncias podem ser inibidas. Em condições naturais, os flavonóides têm um importante papel na defesa de plantas. É possível que o meio de cultura utilizado que induziu a formação de calos, não tenha favorecido a formação de flavonóides, que apareceram em baixas concentrações, como também observado por Dias et al. (1998) em *Hypericum perforatum*, já que em meio de cultura, a planta não necessitaria de produzir grande quantidade de fitoalexinas.

Nota-se a partir da análise dos resultados obtidos para fenóis e flavonóides que a melhor época de obtenção desses compostos em plantas de camomila micropropagadas foi aos 65 dias, principalmente em calos. Resultados semelhantes são descritos por Arnaldos et al. (2001) quando estudaram essas substâncias em cultura de calos de *Fragaria x ananassa* cv. Chandler. De acordo com esses autores, essa resposta positiva pode ser devida aos fenóis terem agido como promotores ou modulares de crescimento. Outros exemplos desta ação podem ser encontrados nos trabalhos de Feucht et al. (1998) e de Teutonico et al. (1991).

## **CONCLUSÃO**

Conclui-se que BAP induziu multiplicação no primeiro subcultivo (30 dias). As diferentes combinações de BAP e ANA testadas, além da concentração de 1 mg L<sup>-1</sup> de BAP no meio de cultura, levaram a formação de calos. As plantas cultivadas *in vitro*, de modo geral, apresentaram maior conteúdo de fenóis em comparação com as plantas cultivadas no campo. Meio contendo BAP foi o melhor indutor de compostos fenólicos. As flores das plantas cultivadas no campo apresentaram maior conteúdo de flavonóides. As plantas de camomila cultivadas *in vitro* podem ser utilizadas como fonte de compostos fenólicos, incluindo os flavonóides e a produção das plantas de camomila micropropagadas é viável, fornecendo concentrações de fenóis e flavonóides similares àquelas cultivadas no campo.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores são gratos à FAPESP e FUNDUNESP.

## **REFERÊNCIAS**

- Abrie, A.L.; Van Staden, J. Micropropagation of the endangered *Aloe polyphylla*. *Plant Growth Regulation*, v.33, p.9-23. 2001.
- Arnaldos, T.I.; Muñoz, R.; Ferrer, M.A.; Calderón, A.A. Changes in phenol content during strawberry (*Fragaria x ananassa*, cv. Chandler) callus culture. *Physiologia Plantarum*, v.13, p.315-322, 2001.
- Awad, A.M.; Jager, A. De; Westing, L.M.V. Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterisation of variation. *Scientia Horticulturae*, v.83, p.249-263, 2000.
- Bhojwani, S.S.; Razdan, M.K. *Plant Tissue Culture: Theory and practice*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers. 502p. 1983.

- Cimanga, R.K.; Tona, L.; Luyindula, N.; Mesia, K.; Lusakibanza, M.; Musuamba, C.T.; Apers, S.; Bruyne, T.D.; Van Miert, S.; Hermans, N.; Totté, J.; Pieters, L.; Vlietinck, A.J. *In vitro* antiplasmodial activity of callus culture extracts and fractions from fresh apical stems of *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae): part 2. *Journal of Ethnopharmacology*, v.95, p.399-404, 2004.
- Dias, A.C.P.; Tomás-Barberán, F.A.; Fernandes-Ferreira, M.; Ferreres, F. Unusual flavonoids produced by callus of *Hypericum perforatum*. *Phytochemistry*, v.48, p.1165-1169, 1998.
- Feucht, W.; Treutter, D.; Keukenkanp, I. Growth enhancement of grapevine callus by catechin in auxin-free media. *Vitis*, v.37, p.67-71, 1998.
- Hirata, T.; Izumi, S.; Akita, K.; Fukuda, N.; Katayama, S.; Taniguchi, K.; Dyas, L.; Goad, L.J. Lipid constituents of oil bodies in the cultured shoot primordia of *Matricaria chamomilla*. *Phytochemistry*, v.41, p.1275-1279, 1996.
- Hurrell, R.F.; Manju, R.; Cook, J.D. Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *British Journal of Nutrition*, v.81, p.289-295, 1999.
- Izumi, S.; Takashima, O.; Fukuda, N.; Hirata, T. Mr 33 k oil body associated protein in cultured shoot primordia of *Matricaria chamomilla*. *Phytochemistry*, v.42, p.309-312, 1996.
- Kintzios, S.; Nikolau, A.; Skoula, M. Somatic embryogenesis and in vitro rosmarinic acid accumulation in *Salvia officinalis* and *S. fruticosa* leaf callus cultures. *Plant Cell Reports*, v.18, p.462-466, 1999.
- LU, M.C. Micropropagation of *Vitis thunbergii* Sieb. et Zucc., a medicinal herb, through high-frequency shoot tip culture. *Scientia Horticulturae*, v.107, p.64-69, 2005.
- Lucchesini, M.; Bertoli, A.; Mesuali-Sodi, A.; Pistelli, L. Establishment of in vitro tissue cultures from *Echinacea angustifolia* D.C. adult plants for the production of phytochemical compounds. *Scientia Horticulturae*, v.122, p.484-490, 2009.
- Miliauskas, G.; Venskutonis, P.R.; Van Beek, T.A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, v.85, p.231-237, 2004.
- Murashige, T.; Skoog, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, v.15, p.473-497, 1962.
- Oehler, C.; Bendsdorf, K.; Gust, R.; Imming, P. Chamavioline—Antiedematous, but not a constituent of *Matricaria recutita*. *Phytochemistry Letters*, v.2, p.171-175, 2009.
- Pasqual, G.; Avato, P.; Monacelli, B.; Santamaria, A.R.; Pia Argentieri, M.P. Metabolites in cell suspension cultures, calli, and in vitro regenerated organs of *Hypericum perforatum* cv. Topas. *Plant Science*, v.165, p.977-982, 2003.
- Santos, M.D.; Blatt, C.T.T. Teor de flavonóides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. de mata e de cerrado. *Revista Brasileira de Botânica*, v.21, p.135-140, 1998.
- Santos-Gomes, P.C.; Seabra, R.M.; Andrade, P.B.; Fernandes-Ferreira, M. Determination of phenolic antioxidant compounds produced by calli and cell suspensions of sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Plant Physiology*, v.60, p.1025-1032, 2003.
- Strack, D. Phenolic metabolism. In: DEY PM; HARBONE JB (eds). *Plant Biochemistry*. London: Academic Press. p. 387-416, 1997.
- Singlenton, V.L.; Rossi, J.A.Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, v.16, p.144-158, 1965.
- Teutonico, R.A.; Dudley, M.W.; Orr, J.D.; Lynn, D.G.; Binns, A.N. Activity and accumulation of cell division-promoting phenolics in tobacco tissue cultures. *Plant Physiology*, v.97, p.288-297, 1991.
- Thiem, B. In vitro propagation of isoflavone-producing *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi. *Plant Science*, v.165, p.123-128, 2003.

Zheng, W.; Wang, S.Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.49, p.5165-5175, 2001.



*Naturalia* – eISSN:2177-0727 - UNESP, Rio Claro, SP, Brasil  
Licenciada sob [Licença Creative Commons](#)