

# Estudo comparativo do desenvolvimento *in vitro* de plântulas de *Hypericum myrianthum* em meios semissólido e líquido de cultura

## Introdução

Aproximadamente vinte espécies do gênero *Hypericum* têm distribuição no Brasil, principalmente na Região Sul do país. Algumas das espécies nativas do Rio Grande do Sul foram avaliadas quanto à constituição química e possibilidade de cultivo *in vitro*<sup>1</sup>. A micropropagação permite a produção controlada de plantas, também viabilizando a avaliação da produção de metabólitos secundários. Esta prática foi inicialmente realizada em meios de cultivo semissólidos, nos quais componentes orgânicos e inorgânicos proporcionam um meio nutritivo para que os tecidos das plantas se desenvolvam. No entanto, estudos com plantas cultivadas em meio líquido demonstram resultados satisfatórios quanto ao acúmulo de biomassa vegetal e produção de moléculas bioativas<sup>2,3</sup>. A espécie *Hypericum myrianthum* apresenta em seus extratos derivados floroglucinois como uliginosina B e japonicina A<sup>4</sup> e, para garantir a manutenção do germoplasma e a continuidade das investigações, o protocolo de cultivo *in vitro* da planta<sup>1</sup> foi estabelecido em meio semissólido, sendo que a otimização foi verificada em meio de MURASHIGUE E SKOOG (MS)<sup>5</sup> contendo 50% da concentração de sais.

## Metodologia

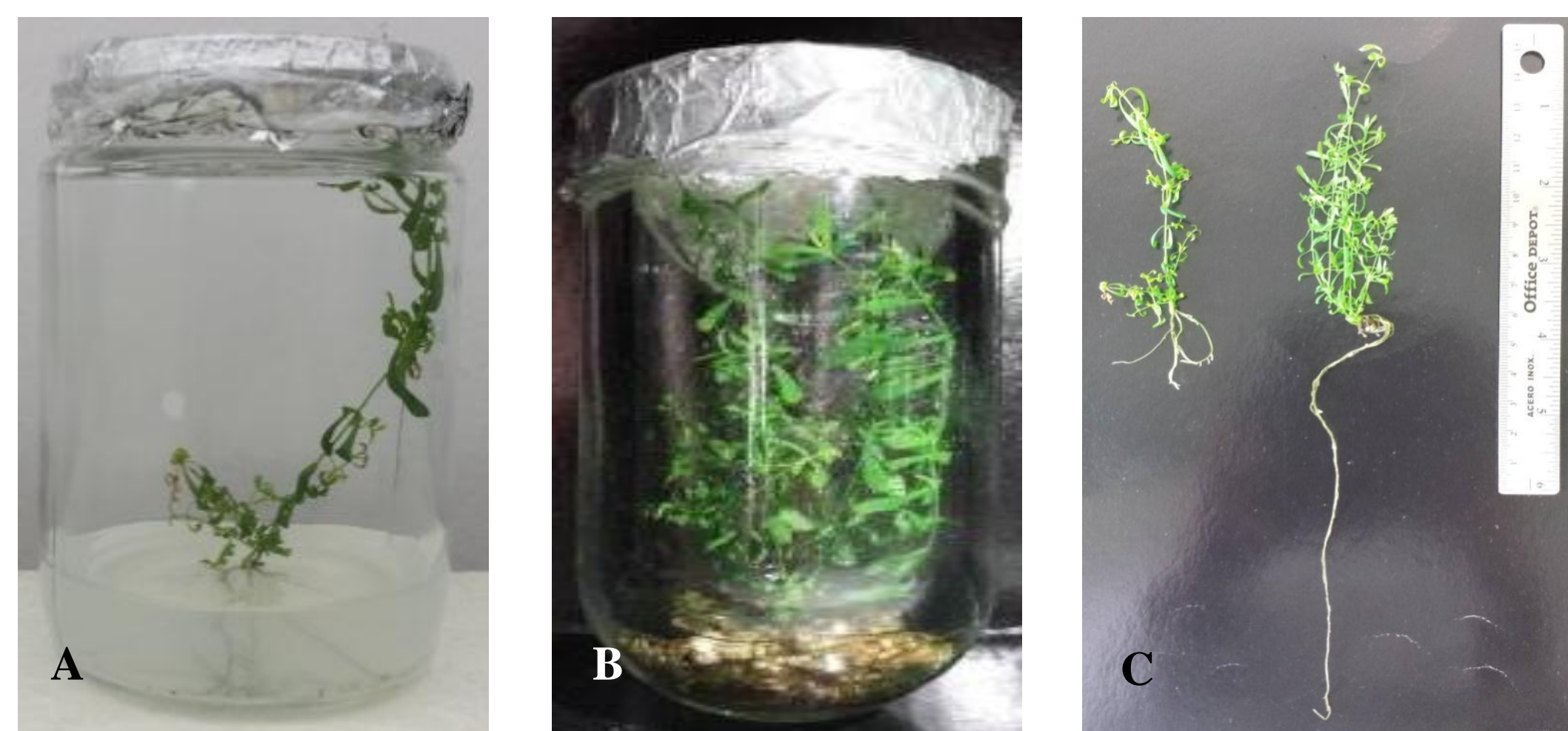
Explantos apicais de 0,5 cm, proveniente de plântulas cultivadas por 4 semanas em meio semissólido (MS 50%), foram transferidos para o mesmo meio e para tubos de ensaio contendo 5 mL de meio líquido de mesma formulação, porém sem a adição de ágar. Ambos os meios foram suplementados com 30 g/L de sacarose, ausência de reguladores de crescimento e pH ajustado para 5,8. Para proporcionar a sustentação das plântulas, 200 mg de vermiculita foram adicionadas a cada tubo, sendo os mesmos mantidos sem agitação. As culturas foram mantidas em sala climatizada a 25 °C, com intensidade luminosa de 50  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 16 h/luz. Após o período de 8, 10 e 12 semanas as plântulas do meio líquido e semissólido foram coletadas, a massa fresca registrada, as plântulas liofilizadas e armazenadas a -20 °C para posterior avaliação de derivados do floroglucinol.

## Objetivos

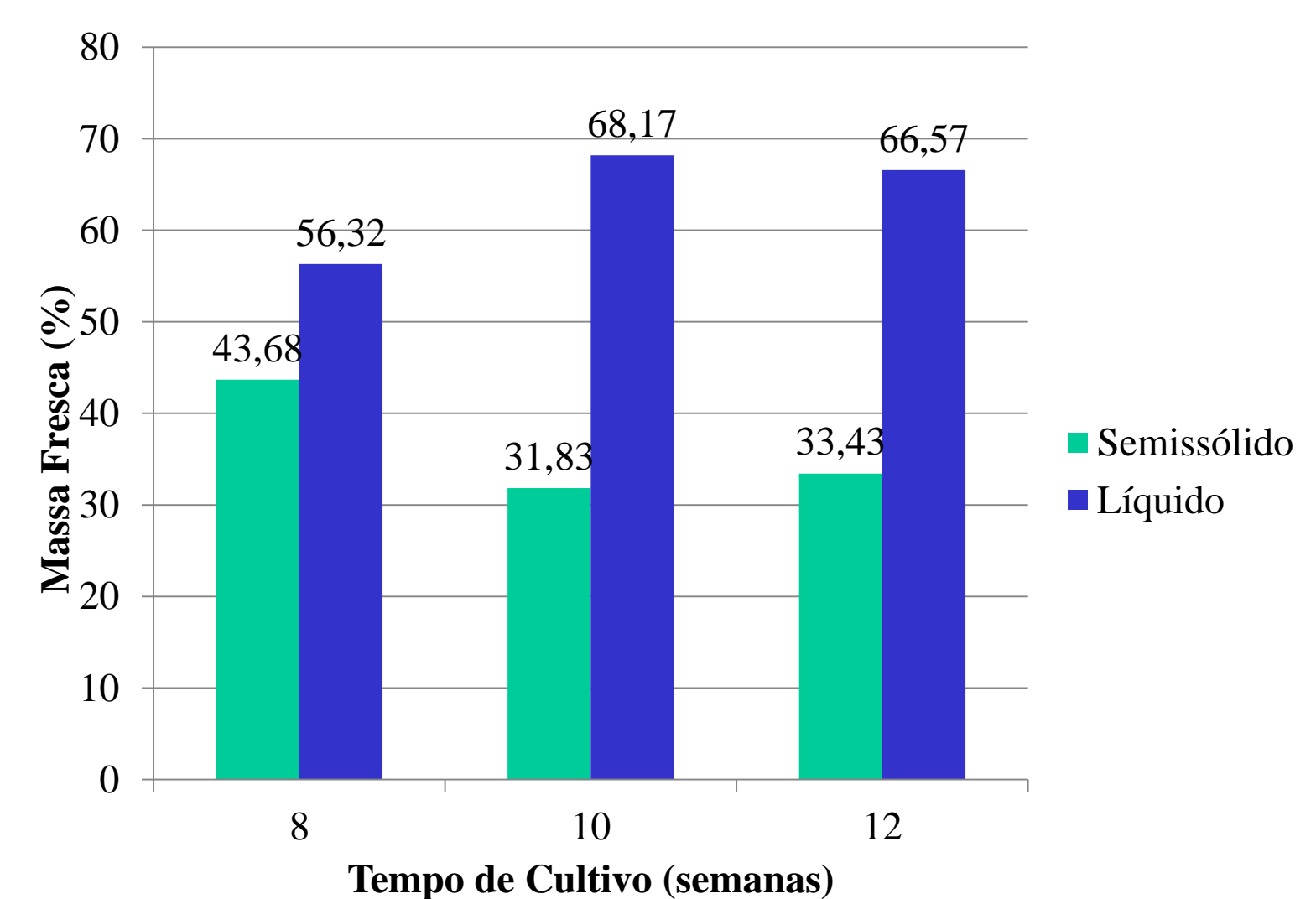
Avaliar o desenvolvimento *in vitro* de plântulas de *H. myrianthum* em meios semissólido e líquido estático de cultura.

## Resultados e Discussão

As plântulas cultivadas em meio semissólido (Figura 1A) e líquido (Figura 1B) demonstraram diferenças no número de brotos e no comprimento das raízes entre os dois sistemas (Figura 1C) e foram avaliadas após 8, 10 e 12 semanas de cultivo (Figura 2). A comparação entre os diferentes meios demonstrou que o acúmulo de biomassa em culturas de *H. myrianthum* em meio líquido, usando a imersão parcial do explante, foi mais eficiente que a cultura em meio semissólido, produzindo maior quantidade de massa fresca. Além disso, as plântulas cultivadas em meio líquido não exibiram hiperhidricidade, comumente ligada à ausência de agente gelificante no meio de cultivo. Plântulas cultivadas por 8 semanas em meio líquido demonstraram aumento de 22,44% na biomassa em comparação às cultivadas em meio semissólido, enquanto que, após 10 semanas as plântulas atingiram crescimento máximo (68,17%) (Figura 2). Possivelmente, o aumento da taxa de crescimento das plântulas em meio líquido esteja relacionado ao maior contato da plântula, e, conseqüentemente, com o meio e maior eficiência na absorção de nutrientes.



**Figura 1:** Plântula de *H. myrianthum* micropropagada em meio MS 50% semissólido (A) e líquido (B), após 12 semanas de cultivo. (C) Aspecto das plântulas cultivadas em meio MS 50% semissólido (esquerda) e líquido (direita).



**Figura 2:** Comparação da produção de massa fresca de plântulas de *H. myrianthum* cultivadas *in vitro* nos meios líquido e semissólido após o período de 8, 10 e 12 semanas.

## Conclusão

O cultivo de *H. myrianthum* em meio líquido estático foi estabelecido com sucesso, proporcionando maior produção de massa quando comparada com as plântulas cultivadas em meio semissólido e possibilitando o cultivo sem adição de agente gelificante e sem agitação.

## BIBLIOGRAFIA

- BERNARDI, A.M.P. Análise química, avaliação da atividade e obtenção de culturas *in vitro* de espécies de *Hypericum* nativas do Rio Grande do Sul. Tese de Doutorado - PPG em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, UFRGS, 2007.
- ADELBERG, J. Agitated, thin-films of liquid media for efficient micropropagation. In: Dutta S, Gupta SD, Ibaraki (eds): **Plant Tissue Culture Engineering**. Springer, Dordrecht, p. 101-117, 2006.
- SAVIO, L.E.B., ASTARITA, L.V., SANTARÉM, E.R. Secondary metabolism in micropropagated *Hypericum perforatum* L. grown in non-aerated liquid medium. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, p. 465-472, 2011.
- BARROS, F.M.C., CCANA-CCAPATINTS, G.V., MEIRELLES, G.C., NUNES, J.M., CARGNIN, S.T., SAKAMOTO, S., BORDIGNON, S.L., del CARPIO, C., CROCKETT, S.L., von POSER, G.L. Determination of phenolic compounds in flowers of *Hypericum* species native to South Brazil and Peruvian Parámos. **Plant Systematics and Evolution**, v. 299, p. 1865-1872, 2013.
- MURASHIGE, T., Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plant**, v. 15, p. 473-497, 1962.