

## Introdução

*Hypericum polyanthemum*, planta nativa do sul do Brasil, produz como um de seus principais metabólitos a uliginosina B, molécula derivada do floroglucinol, para a qual já foram descritas as atividades analgésica<sup>1</sup> e antidepressiva<sup>2</sup>, resultando em um processo de patente. Visando a preservação do material vegetal e a manutenção da qualidade da matéria prima, protocolos de cultivo *in vitro*<sup>3</sup> e *ex vitro*<sup>4</sup> foram desenvolvidos para o desenvolvimento de plantas inteiras da espécie. Adicionalmente, o cultivo *in vitro* de raízes constitui-se em uma técnica vantajosa por oferecer rápida obtenção de biomassa e produção de metabólitos secundários.

## Objetivos

Estabelecer o cultivo *in vitro* de raízes adventícias de *Hypericum polyanthemum* e avaliar os efeitos de diferentes densidades iniciais de inóculo na biomassa final e na produção de uliginosina B.

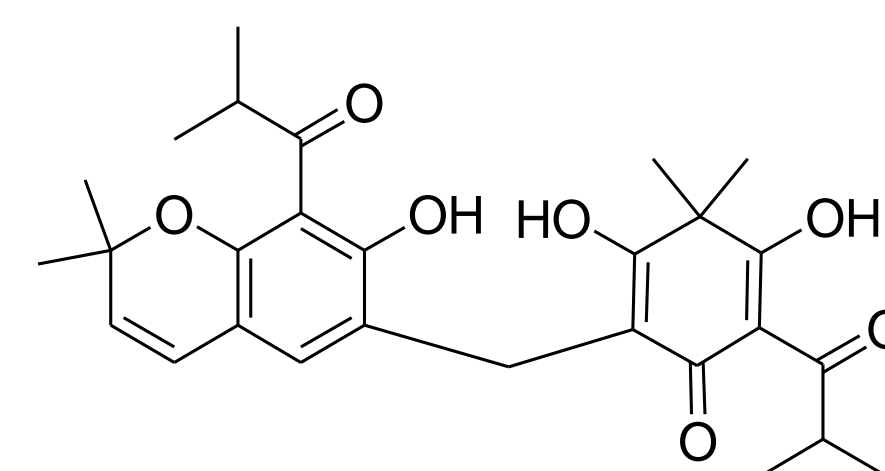


Figura 1: Estrutura química da uliginosina B.

## Materiais e Métodos

As culturas de raízes adventícias foram obtidas de explantes folhares de *Hypericum polyanthemum* cultivados em meio semissólido de Murashigue e Skoog modificado, MΔ<sup>5</sup>, suplementado com 2 mg/L de ácido indol-butírico (Figura 2). Após tornarem-se numerosas, as raízes foram transferidas para erlenmeyers contendo o mesmo meio líquido e subculturadas a cada 2 semanas (Figura 3). O cultivo foi conduzido sob agitação constante (100 rpm), ao abrigo da luz e sob uma temperatura de 25 ± 1°C. Após 6 ciclos de subculturas, as raízes foram padronizadas em inóculos de 2, 4, 6, 8, 10, 40, 80, 120, 140 e 200 g/L e, após 2 semanas, foram realizadas as análises quanto a obtenção de biomassa e acúmulo de uliginosina B (CLAE: sistema isocrático de acetonitrila:água, 95:5, v:v + 0,05 % ATF, a 1ml/min e detecção em 220 nm).

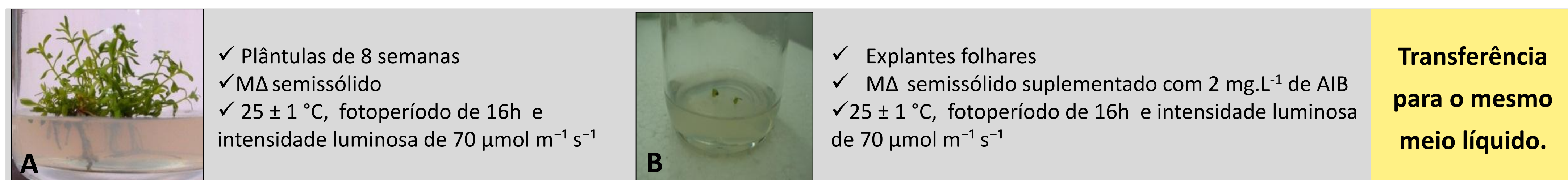


Figura 2: Estabelecimento do cultivo *in vitro* de raízes adventícias: (A) Plântulas micropropagadas de *Hypericum polyanthemum* e (B) explantes folhares apicais excisados das plântulas e cultivados em meio MΔ suplementado com 2 mg/L de ácido indol-butírico. Após tornarem-se numerosas, as raízes foram transferidas para o mesmo meio líquido.



Figura 3: (A) Primeiro segmento de raiz brotado de um explante folhar, (B) numerosos segmentos de raízes obtidos em meio semissólido e (C) cultivo de raízes adventícias de *Hypericum polyanthemum* em meio líquido.

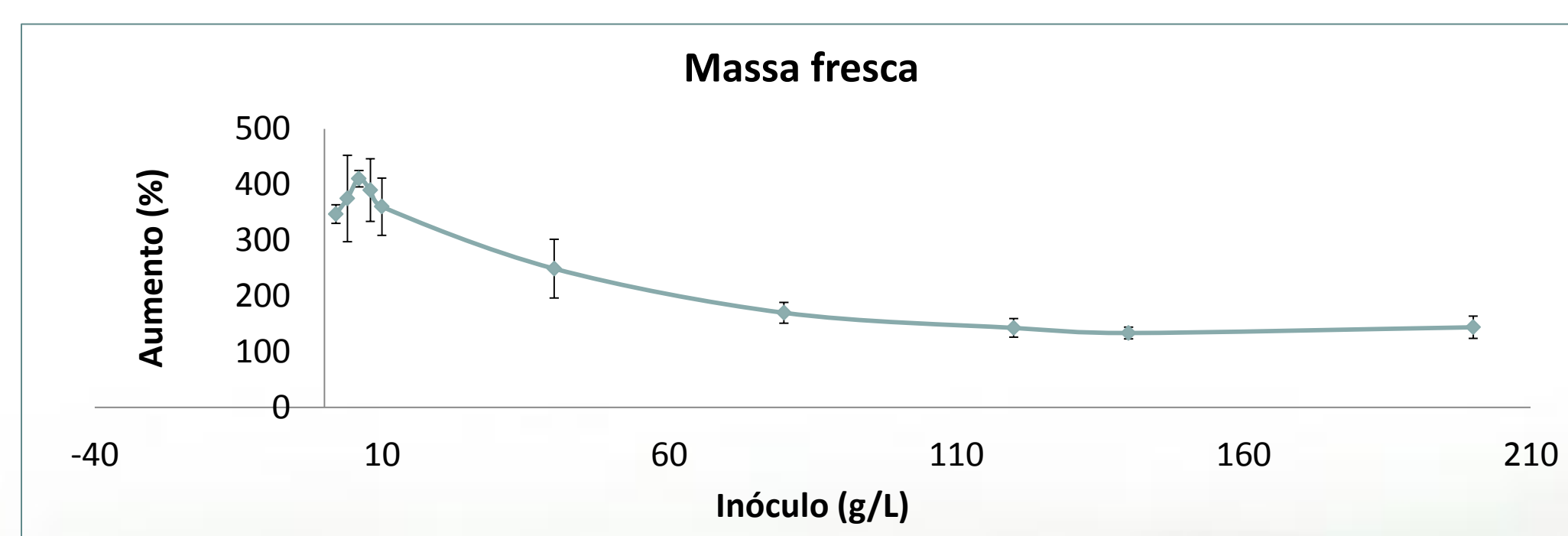


Figura 4: Aumento de biomassa (%) em relação ao inóculo inicial utilizado.

## Resultados

O cultivo *in vitro* de raízes adventícias de *Hypericum polyanthemum* foi estabelecido com sucesso e os inóculos com maior biomassa inicial obtiveram maior acúmulo de biomassa final. No entanto, o maior ganho relativo de biomassa (em porcentagem) foi verificado para os inóculos de até 8 g/L, resultando em um incremento de até 390% da biomassa inicial (Figura 4). A produção de uliginosina B foi detectada apenas nos inóculos com densidades iniciais entre 8 e 160 g/L (4 ± 0,1 mg/100g de peso fresco).

## Discussão e conclusão

Os resultados encontrados estão de acordo com a literatura, que demonstra que maiores densidades iniciais de inóculo resultam em maiores biomassas finais, porém, exercem efeito negativo na taxa de crescimento e na obtenção de metabólitos secundários<sup>6</sup>.

Para determinar o estágio em que é possível obter maior produção de uliginosina B, seguem os estudos da análise da cinética de crescimento, bem como o cultivo em diferentes meios de cultura.