



EFEITOS DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NITRATO DE AMÔNIO E NITRATO DE POTÁSSIO NA MICROPROPAGAÇÃO DA *Hypericum carvenicola* (Hypericaceae)

Isis Naryelle Góes Souza¹, Osmar Alves Lameira², Keila Jamille Alves Costa³, Taise Moreira Barros⁴

¹Estudante de Eng.º Florestal da UFRA, Bolsista Embrapa Amazônia Oriental, isisnaryelle@yahoo.com.br

²Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, osmar.lameira@embrapa.br

³Estudante de Eng.º Florestal da UFRA, Bolsista PIBIC/CNPq/Embrapa Amazônia Oriental, keilajamille@gmail.com

⁴Estudante de Biotecnologia da UFPA, Estagiária Embrapa Amazônia Oriental, taise.moreira.tm@gmail.com

Resumo: A *Hypericum Cavernicola* L. B. SM. está inserida na família botânica Hypericaceae. O método de cultura in vitro demonstra várias aplicações de nível prático e a multiplicação de plantas em larga escala, melhoramento genético, conservação do germoplasma, assim como a produção de metabólitos secundários. O objetivo do trabalho foi analisar o efeito das diferentes concentrações dos compostos minerais nitratos de amônio e de potássio na micropropagação de *Hypericum carvenicola*, visando á redução de custos do meio de cultura MS. O experimento continha cinco tratamentos do meio de cultura sólido MS completo, MS + ½ NH₄NO₃, MS + ½ KNO₃, MS + ¼ NH₄NO₃ e MS + ¼ KNO₃. Cada tratamento continha 4 repetições com dois frascos, e cada frasco apresentava três explantes incubados contendo 30 mL dos meios de cultura. As avaliações ocorreram após 36 dias da inoculação para as variáveis peso de massa fresca e peso de massa seca. O meio de cultura MS completo apresentou os maiores valores médios de peso de massa fresca e peso de massa seca. Não ocorreu diferença significativa entre as diferentes concentrações e fontes de nitrato na composição do meio MS para as variáveis avaliadas não contribuindo possivelmente, para a redução de custos do meio de cultura MS.

Palavras-chave: medicinal, cultura in vitro, meio de cultura.

Introdução

A *Hypericum cavernicola* L. B. SM., está inserida na família botânica Hypericaceae, e possui distribuição no estado do Rio Grande do Sul, em vegetações sobre afloramentos

rochosos e nos domínios da Mata Atlântica e dos Pampas (FLORA..., 2017). O conhecimento sobre as propriedades medicinais da planta ainda não tem comprovação científica, no entanto, para fins populares é utilizada como cicatrizante, antiviral e anti-inflamatório.

O método de cultura *in vitro* demonstra várias aplicações de nível prático e a multiplicação de plantas em larga escala, melhoramento genético, conservação do germoplasma, assim como a produção de metabólitos secundários (Thorpe, 2012). Os meios de cultura usados para o cultivo vegetal são compostos de substâncias orgânicas e inorgânicas que possuem carboidratos, vitaminas, macro e micronutrientes. Dentre os meios de cultura utilizados o meio de cultura MS (Murashige; Skoog, 1962) tem sido o mais eficiente.

O nitrato de potássio é um importante componente do meio de cultura, pois nitrogênio e potássio se mantém controlando o desenvolvimento das raízes e regulando o potencial osmótico (Ribeiro; Teixeira, 2008). O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito das diferentes concentrações dos compostos minerais NH_4NO_3 e KNO_3 na micropropagação de *Hypericum carvenicola*, visando à redução de custos do meio de cultura MS.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia Vegetal da Embrapa Amazônia Oriental situada no município de Belém-PA. O experimento foi realizado com cinco diferentes concentrações de meio de cultura sólido sendo MS completo, MS + $\frac{1}{2}$ KNO_3 , MS + $\frac{1}{4}$ KNO_3 , MS + $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3 e MS + $\frac{1}{4}$ NH_4NO_3 na ausência de regulador de crescimento. Cada concentração do meio de cultura foi composto por 4 repetições com dois frascos, cada um com três explantes incubados contendo 30 mL dos meios de cultura. Os explantes foram retirados plântulas de cultivo *in vitro*, e o material conservado em sala de crescimento com temperatura entre 25° a 30°C e com fotoperíodo de 16 h luz branca fria. A avaliação ocorreu 60 dias após a inoculação dos explantes sendo avaliado peso de massa fresca e após 72 horas de secagem em estufa pesagem de massa seca, com auxílio de balança de precisão. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Resultados e Discussão

Conforme observado na Tabela 1, não ocorreu diferença estatística nas variáveis avaliadas dentre os meios de cultura. O meio MS completo apresentou os maiores valores médio, 2,19 g para peso de massa fresca e 0,24 g para peso de massa seca, respectivamente, dentre todas as variáveis. Os menores valores foram obtidos no meio de cultura MS + $\frac{1}{4}$ KNO₃ para peso de massa fresca e peso de massa seca, respectivamente, 0,79 g e 0,15 g. Foi observado que os meios de cultura contendo a metade das fontes de nitratos superaram as que continham $\frac{1}{4}$ das mesmas fontes.

Tabela 1. Valores médios entre pesos de massa fresca e massa seca das plântulas de *Hypericum carvenicola* em diferentes concentrações de NH₄NO₃ e KNO₃.

Meio de Cultura	Massa Fresca (g)	Massa Seca (g)
MS completo	2.19 a	0.24 a
MS + $\frac{1}{2}$ NH ₄ NO ₃	1.40 a	0.20 a
MS + $\frac{1}{2}$ KNO ₃	1.40 a	0.18 a
MS + $\frac{1}{4}$ NH ₄ NO ₃	0.93 a	0.15 a
MS + $\frac{1}{4}$ KNO ₃	0.79 a	0.15 a

Médias seguidas com a mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Segundo (Silva et al., 2001) ao estudarem as fontes de nitrogênio no desenvolvimento *in vitro* em meio de cultura MS, concluíram que os resultados mais promissores foram obtidos em composição dos sais da fonte KNO₃ associada a altas concentrações de NH₄NO₃ no meio de cultura. Para Capaldi (2002) a forma específica e as concentrações de nitrogênio presente no meio de cultura podem afetar o desenvolvimento vegetal *in vitro* estimulando ou inibindo.

Conclusão

As diferentes concentrações e fontes de nitratos não promoveram diferenças significativas entre as variáveis avaliadas não contribuindo para a redução de custos do meio de cultura MS.

Agradecimentos

A Embrapa Amazônia Oriental pela oportunidade de realizar esse trabalho.

Referências Bibliográficas

CAPALDI, F. R. **Avaliação de diferentes fontes de nitrogênio em explantes de *Cryptomeria japonica* D. DON. “Elegans” cultivados in vitro: análises bioquímicas e relações entre reguladores vegetais.** 2002. 65 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

FLORA do Brasil 2020 em construção. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB603559>>. Acesso em: 07 jul. 2018.

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.

RIBEIRO, J. M.; TEIXEIRA, S. Substituição de nitrato de potássio (PA) por salitre potássico no preparo de meio de cultura de tecidos vegetais esterilizado com hipoclorito de sódio. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 4, p. 1209-1213, 2008.

SILVA, A. B.; PIO, R.; RAMOS, J. D.; MENDONÇA, V.; PASQUAL, M.; CALEGARI, M. Influência das fontes de nitrogênio NH_4NO_3 e KNO_3 no desenvolvimento *in vitro* do porta-enxerto ‘Trifoliata’. **Revista Científica Rural**, v. 6, n. 2, p. 147-152, 2001.

THORPE, T. A. History of plant cell culture. In: SMITH, R. H. **Plant Tissue Culture: Techniques and Experiments.** 3rd ed. San Diego: Academic Press, 2012. p. 1-22.