



**Efeito da intensidade de luz no desenvolvimento de espécies medicinais e
aromáticas em condições *in vitro***

**Effect of light intensity on the development of medicinal and aromatic
species under *in vitro* conditions**

DOI: 10.55905/revconv.16n.5-040

Recebimento dos originais: 25/04/2023

Aceitação para publicação: 23/05/2023

Ana Caroline Batista da Silva

Graduada em Engenharia Agrônômica

Instituição: Universidade Federal Rural da Amazônia

Endereço: Belém - PA, Brasil

E-mail: anacarolinebatista79@gmail.com

Osmar Alves Lameira

Doutor em Fitotecnia, Biotecnologia de Plantas

Instituição: Embrapa Amazônia Oriental

Endereço: Belém - PA, Brasil

E-mail: osmar.lameira@embrapa.br

Herica Santos de Oliveira

Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas

Instituição: Universidade Federal Rural da Amazônia

Endereço: Belém - PA, Brasil

E-mail: herica.oliveira@ufra.edu.br

Joanne Moraes de Melo Souza

Doutora em Química Orgânica

Instituição: Universidade Federal Rural da Amazônia

Endereço: Belém - PA, Brasil

E-mail: joanne.souza@ufra.edu.br

Simone Rodrigues de Miranda

Doutora em Biologia Molecular

Instituição: Embrapa Amazônia Oriental

Endereço: Belém - PA, Brasil

E-mail: simone.rodrigues@embrapa.br

Tassia Alana Alves Ferreira

Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia

Instituição: Universidade Federal do Pará

Endereço: Belém - PA, Brasil

E-mail: tassia.alana@gmail.com



Alex Santos Guedes

Graduando em Biotecnologia
Instituição: Universidade Federal do Pará
Endereço: Belém - PA, Brasil
E-mail: alex.guedes@icb.ufpa.br

Maria Sintia Monteiro da Costa

Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia
Instituição: Universidade Federal do Pará
Endereço: Belém - PA, Brasil
E-mail: sintiamonteiro@hotmail.com

RESUMO

Através da micropropagação na área agrícola as plantas medicinais têm sido bastante difundidas com perspectiva para obtenção de novas espécies que servirão como fonte de compostos biologicamente ativos e aprimoramento da produção de fitofármacos. A luz é um dos requisitos mais importantes para o desenvolvimento de plântulas cultivadas *in vitro*, pois pode influenciar nos aspectos morfológicos, anatômicos e fisiológicos através da irradiância ou *irradiância de fótons* que incidem numa superfície como a das folhas e com isso fenômenos biológicos importantes, como a fotossíntese, respondem de maneira diferentes na planta. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes irradiâncias de fótons no desenvolvimento de três espécies medicinais e aromáticas. O experimento consistiu em um esquema fatorial 3 X 3 com três diferentes irradiâncias de fótons: 35, 45, e 75 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em três espécies: *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex Spreng, *Hypericum cavernicola* L. B. SM e *Hypericum teretiusculum* A.St.-Hil. Cada tratamento foi composto por 4 repetições e 3 explantes em cada frasco, os segmentos utilizados foram os nodais e apicais. As variáveis analisadas foram número de brotos, altura dos brotos e a concentração da clorofila. Ocorreu diferença estatística significativa entre as diferentes irradiâncias para variável brotação, com a *H. teretiusculum* se destacando com 9,17 brotos para irradiância de 45 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e para a variável altura dos brotos só houve diferença estatística para a espécie *A. suaveollens*, se destacando com 7,03 cm para irradiância de 75 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Para os teores de clorofila, a espécies que apresentaram as maiores médias foram *H. cavernicola* e *H. teretiusculum*, com valores de 11,286 (35 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e 10,801 (75 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) respectivamente, seguidas da *A. suaveollens* com 9,451 para irradiância de 35 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Concluindo que as diferentes irradiâncias influenciam o crescimento e a produção dos pigmentos fotossintéticos diferentemente nas espécies medicinais e aromáticas avaliadas.

Palavras-chave: cultura de células vegetais, irradiâncias de fótons, *hypericum cavernicola*, *hypericum teretiusculum*, *aeollanthus suaveollens*.

ABSTRACT

Through micropropagation in the agricultural area, medicinal plants have been widely disseminated with the prospect of obtaining new species that will serve as a source of biologically active compounds and improvement in the production of phytochemicals. Light is one of the most important requirements for the development of seedlings grown *in vitro*, because it can influence morphological, anatomical, and physiological aspects through the irradiance or *photon irradiance* that falls on a surface such as that of the leaves, and thus important biological



phenomena, such as photosynthesis, respond differently in the plant. The present work aimed to evaluate the influence of different photon irradiances on the development of three medicinal and aromatic species. The experiment consisted of a 3 X 3 factorial scheme with three different photon irradiances: 35, 45, and 75 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ in three species: *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex Spreng, *Hypericum cavernicola* L. B. SM and *Hypericum teretiusculum* A.St.-Hil. Each treatment was composed by 4 repetitions and 3 explants in each flask, the segments used were nodal and apical. The variables analyzed were number of shoots, height of shoots and chlorophyll concentration. A statistically significant difference occurred among the different irradiances for the sprouting variable, with *H. teretiusculum* standing out with 9.17 sprouts for irradiance of 45 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ and for the sprout height variable there was only a statistical difference for the species *A. suaveollens*, standing out with 7.03 cm for irradiance of 75 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. For chlorophyll contents, the species that presented the highest averages were *H. cavernicola* and *H. teretiusculum*, with values of 11.286 (35 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) and 10.801 (75 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) respectively, followed by *A. suaveollens* with 9.451 for irradiance of 35 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. In conclusion, different irradiances influence the growth and production of photosynthetic pigments differently in the medicinal and aromatic species evaluated.

Keywords: plant cell culture, photon irradiances, *hypericum cavernicola*, *hypericum teretiusculum*, *aeollanthus suaveollens*.

1 INTRODUÇÃO

A biotecnologia é um conjunto de técnicas que utiliza os seres vivos, ou parte desses, no desenvolvimento de processos e produtos que tenham uma função econômica e/ou social. Esse conjunto de técnicas envolve várias áreas de conhecimento, em consequência, vários profissionais, sendo uma ciência de natureza multidisciplinar (FALEIRO; ANDRADE, 2011).

Dentro das várias áreas de conhecimento da biotecnologia, a cultura de tecidos vegetais é uma técnica que tem se destacado e que tem grande participação na agricultura. Nessa técnica pequenos fragmentos de tecido vivo, chamados explantes, são isolados de um organismo vegetal, desinfestados e cultivados assepticamente, por períodos indefinidos em um meio de cultura apropriado (ANDRADE, 2002). Além disso, essa ferramenta biotecnológica permite a produção de metabólitos secundários *in vitro*, assegurando, assim, formas alternativas para a exploração sustentável de algumas espécies, principalmente em ecossistemas ameaçados (LAMEIRA et. al., 2020).

Morais, et. al., (2012) abordaram a temática da aplicação da cultura de tecidos em plantas medicinais, os autores citaram que apesar dos avanços que foram observados na medicina moderna, as plantas medicinais ainda desempenham um importante papel na saúde mundial. Entre as aplicações da cultura de tecidos, a micropropagação (propagação clonal) é muito



utilizada, onde o cultivo *in vitro* é mais asséptico em virtude das condições químicas do meio de cultura, pH, trocas gasosas e físicas das condições ambientais como temperatura, luminosidade realizadas artificialmente.

Os nutrientes minerais disponíveis para o cultivo *in vitro* são de grande importância pois são ricos em macro e micronutrientes, vitaminas, ferro e sacarose, essa importância se está relacionada principalmente ao fato de a maioria está relacionada ao nitrogênio, que é o constituinte de diversos componentes celulares (aminoácidos, ácidos nucleicos e proteínas) e são limitantes no crescimento dos vegetais, sendo o nitrato (NO_3^-) e o amônio (NH_4^+) as principais formas nitrogenadas absorvidas pelas plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Além do fator nutricional, as condições ambientais também são importantes para o cultivo *in vitro* e essas condições envolvem pH, temperatura, luz e as trocas gasosas entre outros fatores (HUSSAIN et. al., 2012; SOUZA et. al., 2018) sendo a temperatura e a luz feitas de forma artificial com salas fechadas e climatizadas, com iluminação feita com lâmpadas de LED ou fluorescentes.

As clorofilas são os pigmentos naturais mais abundantes presentes nas plantas e ocorrem nos cloroplastos das folhas e em outros tecidos vegetais (STREIT et. al., 2005) e estão ligadas a luminosidade em que a planta é submetida. Um dos fatores ligados à eficiência fotossintética de plantas e conseqüentemente ao crescimento e adaptabilidade a diversos ambientes é a clorofila, presente em todos os vegetais verdes. Atualmente os pigmentos clorofilianos são de grande importância comercial, podendo ser utilizados tanto como pigmentos como antioxidantes (SOUSA et. al., 2015).

A micropropagação tem um papel importante na propagação comercial, fornecendo material vegetal de qualidade para a indústria farmacêutica e química (PEÑA-RAMÍREZ et al., 2012) através da propagação comercial de plantas medicinais, produzindo metabolitos secundários independente das condições sazonais e climáticas (ARAÚJO, 2018). Portanto, a cultura de tecidos é uma ferramenta com alto potencial para a preservação e propagação de fontes vegetais como as plantas medicinais.

A espécie *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex Spreng é uma planta aromática e medicinal de origem africana, no Brasil conhecida popularmente como catinga de mulata ou macassá (CARMO, et al., 2015; FERREIRA, et al., 2017). É uma erva anual bem estabelecida na Amazônia brasileira, muito utilizada na medicina tradicional por seus efeitos sedativos e



anticonvulsivantes, outra forma de uso da espécie é no combate à febre, dor de cabeça, início de derrame, dor de barriga e diarreia, sendo a folha a parte mais utilizada nas formas de chá e sumo (GOIS et al., 2016; SRINIVASAN; ROY, 2017; FERREIRA et. al., 2017).

Ela também é utilizada no folclore para a ornamentação de vários rituais afro-religiosos (TUCKER et al. 2001), e em perfumes caseiros (OLIVEIRA et al. 2004). Segundo Ferreira, et al (2017), *A. suaveolens* possui elevada importância terapêutica, devido à presença de constituintes químicos, os quais são responsáveis por relevantes atividades biológicas como efeitos analgésicos e antimicrobianos (ARAÚJO, 2018).

Outras espécies que se destacam são as da família Hypericaceae, dentro do *Hypericum*, no Brasil o Rio Grande do Sul é o estado com maior número de espécies deste gênero. As espécies dentro desse gênero se destacam quanto ao uso para fins medicinais, através de metabólitos secundários e compostos fenólicos com atividades biológicas podendo ser antidepressivos, antiviral e anti-inflamatório (BIAVATTI 2011; COSTA, et. al., 2017).

As espécies *Hypericum cavernicola* L. B. SM e *Hypericum teretiusculum* A.St.-Hil são igualmente empregadas popularmente por comunidades nativas para fins medicinais como, cicatrizante, antiviral e anti-inflamatório, muito embora o conhecimento sobre as propriedades medicinais destas ainda não tenham comprovação científica (FRANÇA et al., 2009).

Com base na literatura consultada, há poucos trabalhos com diferentes irradiâncias no cultivo *in vitro* de espécies medicinais e aromáticas, sendo encontrado um com a espécie *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex Spreng. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento de três espécies medicinais e aromáticas sob diferentes intensidades de luz cultivadas *in vitro*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia e Recursos Genéticos, da Embrapa Amazonia Oriental, localizado em Belém – PA. O material vegetal utilizado neste estudo foram as espécies *Aeollanthus suaveolens*, *Hypericum cavernicola* e *Hypericum teretiusculum* que estavam sendo subcultivadas *in vitro* em meio de cultura Murashige & Skoog Basal Medium no laboratório.



2.1 MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DAS PLÂNTULAS MEDICINAIS SUBMETIDAS A DIFERENTES IRRADIÂNCIAS DE FÓTONS

Como explantes foram utilizados brotos com aproximadamente 1,00 cm de comprimento provenientes do 3º subcultivo *in vitro*. Estes explantes foram repicados dentro de uma câmara de fluxo laminar esterilizada, com auxílio de pinças e bisturi. Os brotos das espécies *Aeollanthus suaveolens*, *Hypericum cavernicola* e *Hypericum teretiusculum* foram inoculadas em frascos de 250 mL contendo 30 mL de meio de cultura MS (Sigma), que é rico em macro e micronutrientes, vitaminas, ferro, adicionado 30,0 g.L⁻¹ de sacarose (Êxodo científica), com pH ajustado a 5,7 ± 0,1 e em seguida gelificado com 3,0 g.L⁻¹ de Phytigel (Sigma), a proporção indicada para esse meio é de 4,4 g para cada 1000 mL.

Após a inoculação o material foi transferido para sala de crescimento em condições assépticas, com temperatura de 25 °C ± 1 e com fotoperíodo de 14 horas, e 10h na ausência de luz. O experimento testou o fator abiótico luz, para isso foram utilizadas lâmpadas de luz LED branca em diferentes (9 W, 12 W e 15 W) e que emitem diferentes irradiâncias de fótons. Foram utilizados três irradiâncias: com 35, 45 e 75 µmol.m⁻².s⁻¹.

O delineamento experimental foi em um esquema fatorial 3 x 3 (3 irradiâncias de fótons e 3 espécies de plantas), cada tratamento era composto por 4 repetições com um frasco cada e 3 explantes em cada frasco. No total foram utilizados 36 frascos para os experimentos com as espécies *Aeollanthus suaveolens*, *Hypericum cavernicola* e *Hypericum teretiusculum*, os segmentos utilizados foram os nodais e apicais.

2.2 AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DAS PLÂNTULAS CULTIVADAS *IN VITRO*

As variáveis analisadas foram altura dos brotos (AB) (medido com régua graduada), número de brotos (NB) e se as plântulas enraizaram ou não, concentração de clorofila e carotenoides. Outro ponto analisado, no caso da espécie *Aeollanthus suaveolens*, foi a floração que no caso dessa espécie pode ocorrer mesmo estando em condições *in vitro*, o que não ocorre da mesma maneira para as espécies *Hypericum cavernicola* e *Hypericum teretiusculum*.

Os experimentos foram mantidos durante o período de 7 semanas, sendo sua primeira avaliação realizada ao completar uma semana após a inoculação dos explantes. As avaliações foram feitas semanalmente dentro desse período de 6 semanas após inoculados.



2.3 QUANTIFICAÇÃO DE CLOROFILA E CAROTENOIDES

Ao final dos experimentos foram realizadas análises para a quantificação de clorofila e carotenoides das espécies estudadas.

A quantificação foi realizada de acordo com o método de Lichthenthaler (1987). Para isso, folhas das três espécies utilizadas nesse experimento foram coletadas e pesadas. Foram utilizadas três amostras de cada tratamento com aproximadamente 100 mg do tecido foliar e 50 mg de CaCO_3 , em seguida foi acrescentado 5 mL de acetona 80% como solvente para a maceração com ajuda do almofariz e pistilo de porcelana.

Após a maceração, as amostras foram transferidas para tubos de plásticos e colocados para centrifugar o extrato a 6.000 rpm, durante 10 minutos a 10°C (Figura 3). Após o processo de centrifugação o sobrenadante (parte líquida esverdeada que separa dos resíduos sólidos durante a centrifugação) foi transferido cuidadosamente para tubetes envoltos de papel alumínio, acrescentando mais acetona a 80% para completar o volume de 15 mL (LICHTHENTHALER, 1987).

A leitura de absorvância foi feita com um espectrofotômetro e as leituras das amostras realizadas em 3 comprimentos de onda diferentes: 663 nm, 646 nm, 470 nm. Os valores de absorvância precisam ficar entre 0,2 e 0,8 caso não passe deve-se fazer a diluição do extrato, porém para as amostras utilizadas a diluição em 15 mL foi suficiente. Para obter os valores reais das concentrações de clorofila e carotenoide em mg L^{-1} , foram necessários realizar o cálculo com as seguintes fórmulas (LICHTHENTHALER., 1987).

$$\text{Clorofila } a = C_a = 12,25 A_{663,2} - 2,79 A_{646,8}$$

$$\text{Clorofila } b = C_b = 21,50 A_{646,8} - 5,10 A_{663,2}$$

$$\text{Clorofilas totais} = C_{(a+b)} = 7,15 A_{663,2} + 18,71 A_{646,8}$$

$$\text{Carotenóides (xantofilas + carotenos)} = (1000 A_{470} - 1,82 C_a - 85,02 C_b) / 198$$

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística das variáveis e geração dos gráficos foi realizada através do software R Studio versão 1.3.1093 utilizando a biblioteca ExpDes.pt e a função “fat2.dic”, o qual já realiza análise de normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk e sendo realizado o teste de homoscedasticidade pelo teste de Bartlett, igualmente feito a ANOVA e posteriormente, o teste Post-Hoc de Tukey e para todas as análises foi considerado o nível de significância de 5%.



3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DAS PLÂNTULAS CULTIVADAS *IN VITRO*

Embora não se tenha dados quantitativos de floração e enraizamento as três espécies obtiveram bom desenvolvimento radicular para as três irradiâncias de fótons, e a espécie *A. suaveolens* a partir da quinta semana de avaliação iniciou seu período de floração para o tratamento com $35 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, como mostra a figura 4, que se manteve até o final das avaliações, na sexta semana. As demais plantas de *A. suaveolens* com tratamentos de 45 e $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ apresentaram início da floração nas semanas seguintes, tal comportamento não se repetiu para as outras duas espécies do gênero *Hypericum*.

Araújo (2018) utilizou irradiâncias de fótons de 20, 57, 78, 102 e $139 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, as plântulas cultivadas sob baixa intensidade apresentaram-se menores em relação as que foram mantidas sob intensidades mais elevadas. Sendo o menor crescimento de sistema radicular para a menor irradiância ($20 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e o maior crescimento a partir da intensidade intermediária, a irradiância de $78 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ proporcionou maior crescimento e número de raízes.

Na Tabela 1 encontram-se os valores médios de número de brotos e altura desses brotos das três espécies utilizadas e para as três irradiâncias. Houve diferença estatística significativa para a variável número de brotos para as espécies com as diferentes irradiâncias de fótons. A espécie *H. teretiusculum* obteve maiores médias, e deferiram significativamente em relação as outras espécies para o número de brotos (Tabela 1). Hsie (2017), quando avaliou a influência da intensidade de luz no cultivo *in vitro* de *L. rotundifolia* Cham., uma espécie considerada aromática, observou que na maioria dos parâmetros a planta se desenvolveu melhor em intensidades inferiores a $88 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Para a espécie *A. suaveolens* o maior número médio de brotos foi obtido com irradiância de fótons de $35 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ com 3,67 brotos. Já para a variável altura dos brotos o tratamento com irradiância de $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ apresentou a maior média com 7,03 cm. Para as espécies *H. cavernícola* e *H. teretiusculum* não ocorreu diferença estatística significativa no desenvolvimento de número e altura de brotos para nenhuma das irradiâncias de fótons avaliadas.



Tabela 1: Média de número de brotos (NB) e altura dos brotos (AB) das espécies *A. suaveolens*, *H. cavernícola* e *H. teretiusculum* cultivadas *in vitro* em meio MS sob diferentes irradiâncias após o cultivo de sete semanas.

	Irradiância de fótons ($\mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$)	<i>A. Suaveollens</i> (1)	<i>H. Cavernícola</i> (1)	<i>H. Teretiusculum</i> (1)
NB	35	3,67 \pm 0,36 aB	4,58 \pm 0,44 aB	9,00 \pm 0,43 aA
	45	2,83 \pm 0,21 bC	4,92 \pm 0,51 aB	9,17 \pm 0,74 aA
	75	2,75 \pm 0,18 bB	4,33 \pm 0,38 aB	8,92 \pm 0,71 aA
AB	35	5,98 \pm 0,33 bA	4,53 \pm 0,28 aB	3,92 \pm 0,25 aB
	45	5,85 \pm 0,46 bA	4,38 \pm 0,32 aB	4,26 \pm 0,29 aB
	75	7,03 \pm 0,26 aA	4,54 \pm 0,25 aB	4,60 \pm 0,47 aB

(1) Média \pm SE

Letras minúsculas indicam diferenças estatísticas entre as irradiâncias de fótons (linhas); letras maiúsculas indicam diferenças estatísticas entre as espécies (colunas) com base no teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: autora (2023).

Para o número de brotos da espécie *H. cavernicola*, Guedes et al (2022) obteve uma média de 4,6 brotos com meio de cultura MS completo, com irradiância de fótons de 35 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, valor que se aproxima dos obtidos neste experimento, porém ainda menores que os da espécie *H. teretiusculum*, como mostra na tabela 1.

As alterações na fonte luminosa podem provocar respostas diferentes para cada espécie de planta. Lin et al., (2013) explicou em seu trabalho que essas fotorespostas são importantes para o cultivo de plantas, já que a viabilidade delas se adaptarem aos espectros de iluminação é o que permite controlar o crescimento, desenvolvimento e qualidade nutricional das plantas.

Pela tabela acima é possível observar de forma mais clara que as fotorespostas para as três espécies utilizadas neste trabalho, para a variável número de brotos apresentaram diferença entre suas médias. Embora entre as irradiâncias para a espécie *H. teretiusculum* não se tenha verificado diferença estatística, suas médias de número de brotos demonstraram serem maiores quando comparadas com as das outras duas espécies. Além disso, outra fotoresposta que foi possível observar para as espécies do gênero *Hypericum* foi o tamanho de suas folhas.

No cultivo *in vitro* das espécies *H. teretiusculum* e *H. cavernícola* para conservação e manutenção do material vegetal do laboratório as lâmpadas utilizadas são as fluorescentes tabular, com irradiância de 25 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, nessa situação o comum de se observar são plantas de *H. teretiusculum* e *H. cavernícola* com folhas pequenas e entre nós pouco espaçadas.



Contudo, *H. teretiusculum* e *H. cavernícola* respectivamente, foi possível notar que as folhas ficaram maiores ao passo que se aumentou da irradiância, principalmente para a espécie *H. teretiusculum* que obteve maior tamanho de folha com a irradiância de $75 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

Para a variável altura dos brotos houve diferença estatística entre as irradiâncias de fótons apenas para a espécie *A. suaveolens*, com maior média na irradiância de fótons de $75 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, com 7,03 cm e menor média para a espécie *H. teretiusculum*, com 3,92 cm com irradiância de $35 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (Tabela 1). Para os parâmetros de comprimento de parte aérea no trabalho feito por Hsie (2017), não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos com as irradiâncias de fótons.

Guedes et al (2022) testou diferentes concentrações de meio MS para a espécie *H. cavernícola* com lâmpadas de irradiância de fótons de $35 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, para o parâmetro altura dos brotos no período de 60 dias de avaliação a média de altura dos brotos para as plantas no meio de cultura MS completo era de 3 cm, valor que se aproxima ao obtido para a espécies *H. teretiusculum* para a mesma irradiância de fluxo de $35 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

3.2 AVALIAÇÃO DA QUANTIFICAÇÃO DE CLOROFILA E CAROTENÓIDES

Sob as condições deste experimento foi possível notar que para a clorofila *a* (chl *a*) para as espécies *H. teretiusculum* e *H. cavernicola* obtiveram suas maiores concentrações no tratamento com a maior irradiância de fótons de $75 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Já para a espécie *A. suaveolens* a maior concentração se deu no tratamento com a menor irradiância de fótons de $35 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (Tabela 2). Streit et al., (2005) falou em seu trabalho sobre os pigmentos da clorofila nos vegetais e sua importância, sendo a clorofila *a* (chl *a*) presente em todos os organismos que realizam a fotossíntese oxigênica e é o pigmento que age no primeiro estágio da fotossíntese.

Para a clorofila *b* (chl *b*), pigmento que atua como acessório durante o processo da fotossíntese, foram encontradas em concentrações maiores para as espécies *A. suaveolens* e *H. cavernicola* no tratamento que corresponde a $35 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de irradiância de fótons, com médias de 4,318 e 4,844 respectivamente (Tabela 2). Hsie (2017), testou diferentes irradiâncias de fótons no cultivo *in vitro* da espécie *Lippia rotundifolia* Cham., e obteve resultados significativos para os teores de clorofila *b* (chl *b*) com o tratamento de $20 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, com média de $1,414 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ MF.



Tabela 2: Influência de diferentes irradiâncias de fótons na quantificação dos pigmentos da clorofila (chl) e carotenóides das espécies *A. suaveolens*, *H. cavernícola* e *H. teretiusculum* cultivadas em meio MS *in vitro* durante 7 semanas com base no peso de massa fresca (g.Kg^{-1} MF).

	Irradiância ($\mu\text{mol/m}^2/\text{s}^1$)	<i>A. suaveollens</i>	<i>H. cavernícola</i>	<i>H. teretiusculum</i>
Cloro fila <i>a</i> (chl a)	35	5,133	6,442	6,259
	45	4,572	5,117	5,345
	75	4,935	7,031	6,490
Cloro fila <i>b</i> (chl b)	35	4,318	4,844	3,871
	45	3,989	2,133	4,515
	75	2,539	2,975	4,310
Carot enoid es	35	0,559	0,914	1,049
	45	0,807	1,226	0,463
	75	0,925	1,798	1,166

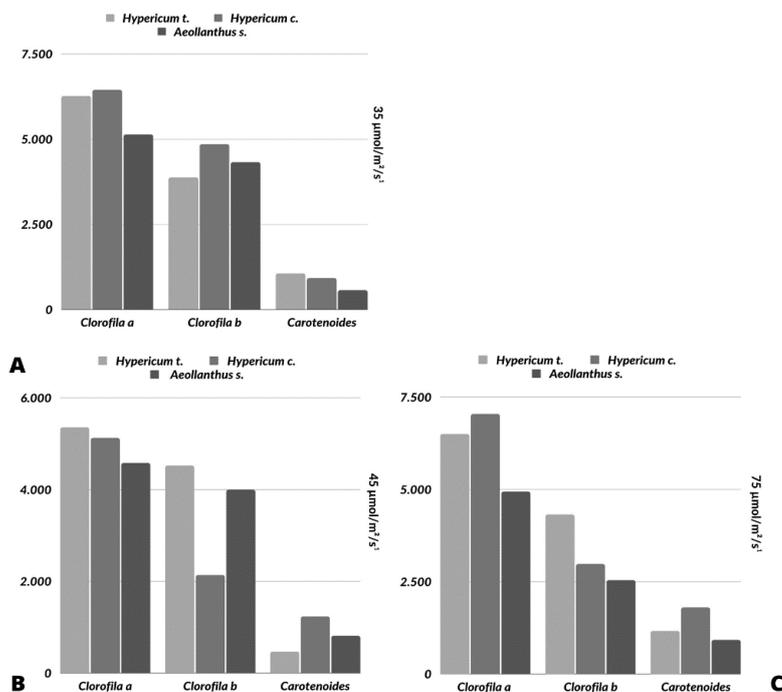
Fonte: autora (2023).

Os resultados obtidos para os carotenoides nas três irradiâncias de fótons testadas, 35, 45 e $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, tiveram as menores médias quando comparados a clorofila *a* e clorofila *b*, isso ocorreu para as três espécies avaliadas no experimento, sendo a *A. suaveolens* com médias menores que as espécies do gênero *Hypericum* (Figura 1). Hsie (2017) observou um padrão diferente para os seus resultados com a espécie aromática utilizada para as concentrações de carotenoides, os valores maiores foram nos tratamentos com 20, 88 e $110 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, porém não houve uma diferença significativa entre eles, os valores ficaram com médias de 0,270; 0,234 e 0,347 respectivamente.

Estes pigmentos, durante a fotossíntese podem desempenhar duas funções distintas: absorção de luz nos complexos de captação de luz atuando como pigmentos acessórios em baixas intensidades de luz, ou atuando como fotoprotetores do aparato fotoquímico evitando danos fotooxidativos às moléculas de clorofila em altas intensidades luminosas (LIMA; ZANELLA; CASTRO, 2010; HSIE, 2017).



Figura 1: Influência de diferentes irradiâncias de fótons na quantificação dos pigmentos da clorofila (chl) e carotenoides das espécies *A. suaveolens*, *H. cavernícola* e *H. teretiusculum* cultivadas em meio MS in vitro durante 7 semanas com base no peso de massa fresca (g.Kg^{-1} MF). A) resultado dos pigmentos da clorofila para o tratamento com $35 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ de irradiância; B) resultado dos pigmentos da clorofila para o tratamento com $45 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ de irradiância; C) resultados dos pigmentos da clorofila para o tratamento com $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ de irradiância.



Fonte: autora (2023).

Os teores totais de clorofila pelo peso da massa fresca (g/kg MF) para as espécies *H. cavernícola* e *H. teretiusculum* para os tratamentos com 35 e 75 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, apresentando médias de: 10,130 e 10,801 para a espécie *H. teretiusculum*, com 35 e 75 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ respectivamente, e 11,286 e 10,005 para a espécie *H. cavernícola*, com 35 e 75 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ respectivamente (Tabela 3).



Tabela 3: Influência de diferentes irradiâncias na quantificação da clorofila total das espécies *A. suaveolens*, *H. cavernícola* e *H. teretiusculum* cultivadas em meio MS *in vitro* durante 7 semanas com base no peso de massa fresca (g/ Kg MF).

	Irradiância ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}^1$)	<i>A. suaveollens</i>	<i>H. cavernícola</i>	<i>H. teretiusculum</i>
Cloro fila total	35	9,451	11,286	10,130
	45	8,561	7,251	9,860
	75	7,474	10,005	10,801

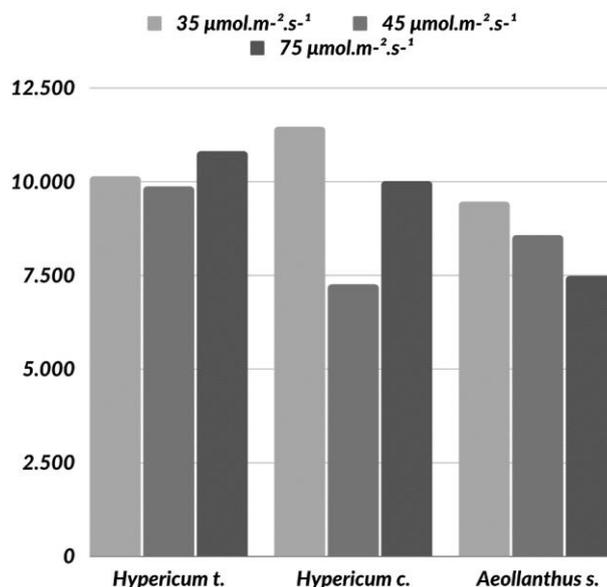
Fonte: autora (2023).

Os resultados da clorofila total para o experimento de Hsie (2017) com a espécie aromática *Lippia rotundifolia* Cham obtiveram melhores resultados no tratamento com $20 \mu\text{mol}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, apresentando valor bem superior aos demais tratamentos aplicados, com média de $2,479 \text{ g}.\text{kg}^{-1}$ MF. Os resultados do experimento obteve resultados similares que foram encontrados por Viña et al., (2001) e Fogaça et al., (2007) em que constaram que a concentração da clorofila apresentou redução na presença de intensidades superiores a $70 \mu\text{mol}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Considerando a função protetora dos carotenoides contra a oxidação da clorofila, pode-se inferir que o tratamento de menor irradiância, $35 \mu\text{mol}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, apresentou melhores resultados para as espécies *A. suaveolens* e *H. cavernícola*, mantendo as duas espécies com valores bons para o total da clorofila e não apresentando toxicidade aparente para o período de 7 semanas de avaliação.



Figura 2: Influência de diferentes irradiâncias de fótons na quantificação da clorofila total das espécies *A. suaveolens*, *H. cavernícola* e *H. teretiusculum* cultivadas em meio MS in vitro durante 7 semanas com base no peso de massa fresca (g.Kg-1 MF).



Fonte: autora.

Considerando os valores mais reduzidos de clorofila total, referente ao tratamento com irradiância de fótons $45 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ das espécies *H. cavernícola* e *H. teretiusculum*, como indicado na figura 2, é possível relacionar com uma das funções que os carotenoides exercem nas plantas o de fotoprotetores contra possíveis danos oxidativos, visto que os valores das concentrações de carotenoides nas duas espécies do gênero *Hypericum* no tratamento com $45 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ apresentaram médias menores que os demais.

4 CONCLUSÕES

Para a espécie *A. suaveolens* o maior número médio obtido de brotos é com a irradiância de fótons de $35 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e para a variável altura dos brotos com irradiância de $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Para a espécie *H. cavernícola* não ocorre diferença estatística para número e altura dos brotos e para a *H. teretiusculum* não ocorre diferença estatística para número de brotos, e para a altura dos brotos as irradiâncias com maiores médias são com 45 e $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

As diferentes irradiâncias de fótons influenciam o desenvolvimento de brotações e altura dos brotos diferentemente nas espécies medicinais e aromáticas avaliadas e alteram os teores de clorofila *a*, *b* e carotenoides nas espécies avaliadas. Para a clorofila total o tratamento com maior



valor de concentração ocorre com irradiância de $35 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ para as espécies *A. suaveolens* e *H. cavernícola*, e para a espécie *H. teretiusculum* com $75 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de irradiância de fótons.



REFERÊNCIAS

ANDRADE, S. R. M. de. Documentos 58: Princípios da Cultura de Tecidos Vegetais. **Documentos/Embrapa Cerrados**, INSS 1517-5111; 58, Planaltina: Embrapa Cerrados, ano 2002, n. 1, p. 16, 2 dez. 2002.

ARAÚJO, D. X. **Cultivo *in vitro* de *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex Spreng. (Lamiaceae): Intensidade, qualidade de luz e sistema de ventilação natural** / Diene Xavier Araújo. 2018. 70 p.

BIAVATTI, M.W. (2011). *Hypericum caprifoliatum* – Hipérico. In. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: Plantas para o Futuro – Região Sul / Lidio Coradin; Alexandre Siminski; Ademir Reis. – Brasília: MMA. 934 p.

CAMPELO, M. F. *et al.* Efeitos de diferentes concentrações de nitrato de amônio e nitrato de potássio na micropropagação de duas espécies de *Hypericum* l. **Brazilian Journal of Development**, [S. l.], ano 11, v. 6, p. 85050-85056, 5 nov. 2020. DOI 10.34117/bjdv6n11-063. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/347340276_efeitos_de_diferentes_concentracoes_de_nitrato_de_amonio_e_nitrato_de_potassio_na_micropropagacao_de_duas_especies_de_hypericum_l_effects_of_different_concentrations_of_ammonium_nitrate_and_potassium_.

CARDOSO, V. J. M. Fotometria para Biologistas. **Oecologia Brasiliensis**, ano 2009, v. 4, n. 13, p. 545-553, dez. 2009. DOI 10.4257/oeco.2009.1304.01.

CARMO, T. N.; LUCAS, F.C. A.; LOBATO, G. DE J.M.; GURGEL, E. S. C. Plantas medicinais e ritualísticas comercializadas na feira da 25 de setembro, Belém, Pará. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.11; n.21; p. 3440–3467, 2015.

COSTA, Keila Jamille Alves *et al.* **Micropropagação da *Valeriana Officinalis* L. E *Hypericum Cavernicola* L. B. SM.** 21º Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental, p. 4, 20 a 22 set. 2017. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/164346/1/Anais-Pibic-2017-On-line-34.pdf>.

FALEIRO, F. G; ANDRADE, S. R. M. Biotecnologia: uma visão geral. In: COSTA, A. M. *et al.* (Orgs.). **Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária**. Planaltina: Embrapa, 2011. cap.1, p.15-26.

FERREIRA, L. R.; TAVARES-MARTINS, A.C.C.; PALHETA, I. C. Aspectos etnofarmacológicos e fitoquímicos de *Aeollanthus suaveolens* Mart. Ex Spreng. In: ALFARO, A. T. S.; TROJAN, D. G. **Ciências ambientais e o desenvolvimento sustentável na Amazônia**. 2017. Curitiba: Ed. Atena, 2017. p. 77–88.

FOGAÇA, L. A. *et al.* Características morfofisiológicas de brotos micropropagados de *Agapantho* sob diferentes intensidades luminosas e concentrações de sacarose. **Scientia Agraria**, v. 8, n. 4, p. 371–378, 2007.



FRANÇA, H. S.; KUSTER, R. M.; RITO, P. D. N.; OLIVEIRA, A. P. D.; TEIXEIRA, L. A.; ROCHA, L. Atividade antibacteriana de floroglucínóis e do extrato hexânico de *Hypericum brasiliense* Choisy. **Química Nova**, v.32, n.5, p.1103-6, 2009.

GOIS, M. A. F.; LUCAS, F. C. A.; COSTA, J. C. M.; MOURA, P. H. B.; LOBATO, G. J. M. Etnobotânica de espécies vegetais medicinais no tratamento de transtornos do sistema gastrointestinal. **Brazilian Journal of Medicinal Plants**, Campinas., v. 18, n. 2, p. 547–557, 2016.

GUEDES, A. S. *et al.* **Avaliação do crescimento *in vitro* sob análise de micropropagação e crescimento lento em diferentes meios de cultura da espécie *Hypericum cavernicola* L. B. SM.** 2º Congresso Brasileiro de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia, Anais de Eventos, ano 2022, v. 1, p. 1-4, 8 ago. 2022. Disponível em: <https://proceedings.science/cbbba-2022/trabalhos/avaliacao-do-crescimento-in-vitro-sob-analise-de-micropropagacao-e-crescimento-l?lang=pt-br>.

HSIE, BETY SHIUE DE. **Reguladores de crescimento, qualidade e intensidade de luz, sistema de ventilação natural e análise da fração volátil na micropropagação de *Lippia rotundifolia* Cham.** 2017. 101 p. Tese (Pós-Graduação em Plantas medicinais, aromáticas e condimentares) - Universidade Federal de Lavras - UFLA, 2017.

HUSSAIN, A. *et al.* Plant tissue culture: current status and opportunities. In: LEVA, A.; RINALDI, L. M. R. **Recent advances in plant in vitro culture.** Rijeka: In Tech, 2012. p. 1-28.

LAMEIRA, O. A. *et al.* Efeitos de Diferentes Concentrações de Nitrato de Amônio e Nitrato de Potássio na Micropropagação da *Valeriana officinalis* L. (valerianaceae) / Effects of Different Concentrations of Ammonium Nitrate and Potassium Nitrate on The Micropropagation of *Valeriana officinalis* L. (valerianaceae). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, p. 85044-85049, 2020.

LICHTHENTHALER H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: COLOWICK SP, KAPLAN NO (ed) **Methods in Enzimology**, v.148. Academic Press, San Diego. pp.350-382.

LIMA, A. L. DA S. *et al.* Crescimento de *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Hayne) Lee et Lang. e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (Leguminosae) sob diferentes níveis de sombreamento. **Acta Amazonica**, v. 40, n. 1, p. 43–48, 2010.

MORAIS, T. P., *et al.* Aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 1, p. 110-121, 2012.

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.

OLIVEIRA, A.S.C., *et al.* **Rendimentos dos principais componentes químicos do óleo essencial de *Aeollanthus suaveolens* (Mart ex. Spreng) em diferentes partes vegetativas.** Manaus: XVIII Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, 2004. 513.



PEÑA-RAMÍREZ, Y., et al. Tissue Culture Methods for the Clonal Propagation and Genetic Improvement of Spanish Red Cedar (*Cedrela odorata*). **Plant Cell Culture Protocols**, v. 877, n. April 2012, 2012. Disponível: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-61779-818-4>

SANTOS, V. S. dos. Plantas Mediciniais. **Mundo educação, Saúde e Bem-Estar**. Disponível em: <https://mundoeducacao.uol.com.br/saude-bem-estar/plantas-mediciniais.htm>

SIMIONATTO, E., et al. Chemical 24 composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Aeolanthus suaveolens* MART. ex Spreng. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1923–1925, 2007.

SOUSA, Samara Jacobina de Carvalho *et al.* **Clorofila A e B, Clorofila total e sua relação com área foliar total em mudas de Caju**. XXXV Congresso brasileiro de ciências do solo - O solo e suas múltiplas funções, Natal - RN, p. 1-4, 2 a 7 de ago. 2015. Disponível em: <https://www.sbcs.org.br/cbcs2015/arearestrita/arquivos/668.pdf>.

SOUZA, I. N. G.; LAMEIRA, O. A.; COSTA, K. J. A.; BARROS, T. M. **Efeitos de diferentes concentrações de nitrato de amônio e nitrato de potássio na micropropagação da *Hypericum teretiusculum* A.St.-Hil.** 2018. (Apresentação de Trabalho/Seminário).

SRINIVASAN, N.; ROY, A. Anticonvulsant properties of some medicinal plants: A review. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 10, n. 2, p. 1–3, 2017.

STREIT, N. M., et al. As clorofilas: revisão bibliográfica. **Ciência Rural**, versão 35, n.3, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p

TUCKER, A.O.; MACIARELLO, M.J. Essential oil of *Aeollanthus suaveolens* Matt. ex Spreng. (Lamiaceae). **J. Essent. Oil Res.**, 2001. 13, 198–199.

VIÑA, G. DE LA et al. Effect of culture media and irradiance level on growth and morphology of *Persea americana* Mill microcuttings. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 65, n. 3, p. 229, 2001.