



**AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* SOB ANÁLISE DE MICROPROPAGAÇÃO E CRESCIMENTO LENTO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE MEIO DE CULTURA DAS ESPÉCIES *Hypericum cavernicola* L.B. SM. e *Hypericum teretiusculum* A.St.-Hil**

**ASSESSMENT OF *IN VITRO* DEVELOPMENT UNDER MICROPROPAGATION ANALYSIS AND SLOW GROWTH IN DIFFERENT CONCENTRATIONS OF CULTURE MEDIUM OF SPECIES *Hypericum cavernicola* L.B. SM. and *Hypericum teretiusculum* A.St.-Hil**

**EVALUACIÓN DEL DESARROLLO *IN VITRO* BAJO ANÁLISIS DE MICROPROPAGACIÓN Y CRECIMIENTO LENTO EN DIFERENTES CONCENTRACIONES DE MEDIO DE CULTIVO DE LAS ESPECIES *Hypericum cavernicola* L.B. SM. y *Hypericum teretiusculum* A.St.-Hil**

Alex Santos Guedes<sup>1</sup>  
Ana Caroline Batista da Silva<sup>2</sup>  
Thalia da Silva Oliveira<sup>3</sup>  
Thainara da Silva Oliveira<sup>4</sup>  
Camilly Ferreira Santana<sup>5</sup>  
Lays da Silva Gomes<sup>6</sup>  
Pedro Henrique Santos Lima<sup>7</sup>  
Osmar Alves Lameira<sup>8</sup>

DOI: 10.54751/revistafoco.v17n4-126

Received: March 22<sup>nd</sup>, 2024

Accepted: April 12<sup>th</sup>, 2024



<sup>1</sup> Graduando em Biotecnologia. Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará. Rua Augusto Corrêa, 01, Guamá, Belém - PA, CEP: 66075-110. E-mail: [alex.guedes@icb.ufpa.br](mailto:alex.guedes@icb.ufpa.br)

<sup>2</sup> Mestranda em Agronomia. Universidade Federal de Lavras. Trevo Rotatório Professor Edmir Sá Santos, Lavras - MG, CEP: 37203-202. E-mail: [anacarolinebatista79@gmail.com](mailto:anacarolinebatista79@gmail.com)

<sup>3</sup> Graduanda em Biotecnologia. Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará. Rua Augusto Corrêa, 01, Guamá, Belém - PA, CEP: 66075-110. E-mail: [thalia.silva0104@gmail.com](mailto:thalia.silva0104@gmail.com)

<sup>4</sup> Graduanda em Biotecnologia. Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará. Rua Augusto Corrêa, 01, Guamá, Belém - PA, CEP: 66075-110. E-mail: [thainaraoliveira1101@gmail.com](mailto:thainaraoliveira1101@gmail.com)

<sup>5</sup> Graduanda em Engenharia Florestal. Instituto de Ciências Agrárias, Universidade do Federal Rural da Amazônia. Avenida Presidente Tancredo Neves, 2501, Terra Firme, Belém - PA, CEP: 66077-830. E-mail: [engcamilly@gmail.com](mailto:engcamilly@gmail.com)

<sup>6</sup> Graduada em Agronomia. Instituto de Ciências Agrárias, Universidade do Federal Rural da Amazônia. Avenida Presidente Tancredo Neves, 2501, Terra Firme, Belém - PA, CEP: 66077-830. E-mail: [layssilva801@gmail.com](mailto:layssilva801@gmail.com)

<sup>7</sup> Graduando em Agronomia. Instituto de Ciências Agrárias, Universidade do Federal Rural da Amazônia. Avenida Presidente Tancredo Neves, 2501, Terra Firme, Belém - PA, CEP: 66077-830. E-mail: [pl15352@gmail.com](mailto:pl15352@gmail.com)

<sup>8</sup> Doutor em Biotecnologia. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Trav. Dr. Enéas Pinheiro, Marco, Belém - PA, CEP: 66095-903. E-mail: [osmar.lameira@embrapa.br](mailto:osmar.lameira@embrapa.br)

## RESUMO

O *Hypericum cavernicola* e o *Hypericum teretiusculum* são exemplos de espécies da família *Hypericaceae* com aplicação na medicina popular difundida pelo uso como anti-inflamatório, antiviral e potencial cicatrizante. Diante de tal cenário, o presente estudo visa avaliar o comportamento das espécies com a influência de diferentes concentrações de meio de cultura Murashige & Skoog (MS) para análise do estabelecimento e da conservação *in vitro*, tendo em vista a necessidade de manutenção da pesquisa técnico científica sobre a temática, destacando a metodologia de micropropagação e crescimento lento de espécies *in vitro*. Foram utilizadas diferentes concentrações de MS: MS completo,  $\frac{1}{2}$  de MS e  $\frac{1}{4}$  de MS, os quais foram suplementados com 30g/L de sacarose. A análise foi feita durante 150 dias, com intervalos de 30 dias entre as avaliações, objetivando-se relatar a altura e a brotação dos explantes presentes nos frascos. A exposição dos dados evidencia o meio de cultura  $\frac{1}{4}$  de MS com maiores médias para altura e brotação do *H. cavernicola* e os meios de cultura MS completo e  $\frac{1}{4}$  de MS para o *H. teretiusculum*, sendo interessante para a multiplicação e regeneração, enquanto o tratamento com  $\frac{1}{2}$  MS apresentou menores médias, sugerindo a sua utilização para a conservação e o crescimento lento de ambas as espécies.

**Palavras-chave:** Crescimento lento; restrição do meio de cultura; micropropagação; *Hypericum cavernicola*; *Hypericum teretiusculum*.

## ABSTRACT

*Hypericum cavernicola* and *Hypericum teretiusculum* are examples of species from the *Hypericaceae* family with applications in popular medicine widely spread by their use as anti-inflammatory, antiviral, and potential healing agents. In this scenario, the present study aims to evaluate the behavior of the species under the influence of different concentrations of Murashige & Skoog (MS) culture medium for in vitro establishment and conservation analysis, considering the need for technical-scientific research maintenance on the subject, highlighting the methodology of micropropagation and slow growth of in vitro species. Different concentrations of MS were used: full MS,  $\frac{1}{2}$  MS, and  $\frac{1}{4}$  MS, which were supplemented with 30g/L of sucrose. The analysis was carried out for 150 days, with intervals of 30 days between evaluations, aiming to report the height and sprouting of explants present in the flasks. The data exposure shows that the  $\frac{1}{4}$  MS culture medium had higher averages for height and sprouting of *H. cavernicola*, and the full MS and  $\frac{1}{4}$  MS culture media for *H. teretiusculum*, being interesting for multiplication and regeneration, while the treatment with  $\frac{1}{2}$  MS presented lower averages, suggesting its use for conservation and slow growth of both species.

**Keywords:** Slow growth; culture medium restriction; micropropagation; *Hypericum cavernicola*; *Hypericum teretiusculum*.

## RESUMEN

*Hypericum cavernicola* y *Hypericum teretiusculum* son ejemplos de especies de la familia *Hypericaceae* con aplicaciones en la medicina popular ampliamente difundidas por su uso como agentes antiinflamatorios, antivirales y potencialmente cicatrizantes. En este escenario, el presente estudio tiene como objetivo evaluar el comportamiento de las especies bajo la influencia de diferentes concentraciones del medio de cultivo Murashige & Skoog (MS) para el análisis del establecimiento y la conservación *in vitro*, considerando la necesidad de mantenimiento de la investigación técnico-científica sobre el tema, destacando la metodología de micropropagación y el crecimiento lento de

especies in vitro. Se utilizaron diferentes concentraciones de MS: MS completo,  $\frac{1}{2}$  MS y  $\frac{1}{4}$  MS, que fueron suplementadas con 30 g/L de sacarosa. El análisis se realizó durante 150 días, con intervalos de 30 días entre las evaluaciones, con el objetivo de informar sobre la altura y la brotación de los explantes presentes en los frascos. La exposición de los datos muestra que el medio de cultivo  $\frac{1}{4}$  de MS tuvo mayores promedios para la altura y la brotación de *H. cavernicola*, y los medios de cultivo MS completo y  $\frac{1}{4}$  de MS para *H. teretiusculum*, siendo interesantes para la multiplicación y la regeneración, mientras que el tratamiento con  $\frac{1}{2}$  MS presentó promedios más bajos, sugiriendo su uso para la conservación y el crecimiento lento de ambas especies.

**Palabras clave:** Crecimiento lento; restricción del medio de cultivo; micropropagación; *Hypericum cavernicola*; *Hypericum teretiusculum*.

## 1. Introdução

A família *Hipericaceae* é descrita na literatura com grande potencial para uso na medicina popular, sendo usada em tratamentos alternativos e também na fitoterapia, tendo em vista a presença de compostos contribuintes para efeitos farmacológicos, apesar de ainda não haver uma completa elucidação acerca do mecanismo de ação [1]. De origem tropical, essa família engloba espécies caracterizadas pela produção de compostos biologicamente ativos, como flavonóides, derivados de floroglucinol e extratos de acetado de etila e acetado de metanol [2]. Os flavonóides são antioxidantes naturais presentes em diversas plantas medicinais, os quais são utilizados para desacelerar o envelhecimento precoce e, até mesmo, na prevenção de doenças cardiovasculares, cancerígenas e imunológicas [3]. Compostos derivados de fluoroglucinol são responsáveis pela atividade antimicrobiana, sendo considerado de extrema importância para a indústria farmacêutica no combate a atividade citotóxica e antidepressiva [4].

O gênero *Hypericum L.* contém diversas espécies popularmente conhecidas por expressar propriedades bioquímicas associadas ao combate a organismos virulentos [5], fúngicos [6] e bacterianos [4]. Além de serem utilizadas para o tratamento de depressão em casos leves a graves [7], disfunções neurodegenerativas e psiquiátricas [8], ansiedade [9] e distúrbios do sono [10]. Apesar da escassez na comprovação do uso eficaz farmacológico, França *et al.* [4] afirma que as espécies *Hypericum cavernicola* e *Hypericum teretiusculum*

são popularmente empregadas em comunidades nativas pela atividade biológica como anti-inflamatório, antiviral e potencial cicatrizante.

A crescente demanda por plantas com características medicinais pela indústria justifica-se não somente pela capacidade de síntese biológica de metabólitos secundários, mas também pela alta qualidade fisiológica e sanitária obtidas através do melhoramento genético e da micropropagação em ambiente controlado de laboratório [11]. Entretanto, a procura indiscriminada por espécies vegetais, associada a impactos ambientais causados por desastres naturais, ações humanas, fitopatologias e ataques a pragas, são fatores que inviabilizam a pesquisa acerca de plantas com risco de extinção, diminuindo, conseqüentemente, a produção e elucidação sobre novas espécies com potenciais farmacológicos, o que corrobora para o conceito de “erosão genética”, difundido por Lameira *et al.*, e caracterizado como principal problemática para o cultivo de espécies medicinais [12, 13].

A biotecnologia surge em tal cenário como técnica de viabilidade para compensar as possíveis perdas de material vegetal, sendo crucial na conservação, multiplicação e na regeneração de plantas *in vitro*, atuando como fonte alternativa para a exploração de forma sustentável das espécies vegetais, com ênfase para os ecossistemas ameaçados pelas ações dos impactos ambientais [14,15].

Com o objetivo de manter a qualidade das culturas vegetais, o estabelecimento de protocolos de conservação e multiplicação é de fundamental importância para o cultivo *in vitro*, os quais visam expandir o período de vida dos explantes e garantir que a técnica seja vantajosa para o desenvolvimento das espécies e para a sua aplicação farmacológica [16]. Apesar das despesas relacionadas aos custos de infraestrutura e mão de obra especializada, o sucesso da conservação *in vitro* de recursos genéticos vegetais com a utilização de técnicas biotecnológicas de micropropagação é essencial para evitar a perda de matéria prima vegetal [12].

Diante das perspectivas relacionadas ao desenvolvimento do cultivo *in vitro* de espécies medicinais, pesquisadores adotaram a estratégia de redução

de concentração do meio de cultura para a micropropagação, o qual é a principal fonte de nutrição para os explantes [17]. Neves *et al.* [18] utilizou a restrição de concentração dos meios de cultura MS e Knudson para avaliação do desenvolvimento e brotação de *Alcantarea imperialis*. Ao passo que Ferreira *et al.* [19] analisou o crescimento e o número de brotos com tratamentos contendo diferentes concentração de meio MS na conservação *in vitro* de *Conobea scoparioides*.

Portanto, a presente pesquisa objetivou avaliar o processo de regeneração e desenvolvimento *in vitro* das espécies *H. cavernicola* (HC) e *H. teretiusculum* (HT) sob diferentes concentrações do meio de cultura, visando aumentar o intervalo entre os subcultivos da espécie, sem a perda de viabilidade, mantendo-se o padrão de qualidade esperado para a micropropagação.

## 2. Material e Métodos

O estudo foi realizado no Laboratório de Biotecnologia e Recursos Genéticos (LBRG), da Embrapa Amazônia Oriental, localizada em Belém, estado do Pará. Os explantes utilizados neste estudo foram obtidos de plantas micropropagadas *in vitro*, pertencentes ao LBRG.

No experimento foram testadas as diferentes concentrações do meio de cultura durante o período de tempo de desenvolvimento da planta. Os explantes de HC e HT, medindo aproximadamente 1,5 cm, foram inoculados em frascos de 250 mL, contendo 30 mL de meio Murashige & Skoog (MS) [20]. Os meios foram suplementados com 30,0 g.L<sup>-1</sup> sacarose e geleificados com 3,0 g.L<sup>-1</sup> de Phytigel, sendo o pH ajustado a 5,7 ± 0,1, os quais foram autoclavados durante 15 minutos a temperatura de 120°C. Os frascos foram mantidos em uma sala com temperatura de 18 ± 1°C e luz LED branca (35 µmol.m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>), durante um fotoperíodo de 12 horas.

O experimento foi baseado nas 3 diferentes concentrações de meio MS, denominados tratamentos: meio de cultura completo (MS); metade do meio de cultura (½ MS) e um quarto do meio de cultura (¼ MS). A análise ocorreu em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) da seguinte forma: 3x5 (3

concentrações de meio de cultura e 5 períodos de avaliação) totalizando 15 tratamentos para cada espécie, cada tratamento continha 3 repetições, sendo que cada repetição possuía 1 frasco com 3 explantes.

As avaliações foram realizadas mensalmente com 30, 60, 90, 120 e 150 dias de inoculação. Foram avaliados o número de brotações e a altura – em centímetros, as médias foram comparadas estatisticamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o software estatístico SISVAR [21].

### 3. Resultados

Com base nas informações obtidas através dos dados estatísticos, não houve interação entre os fatores tempo de cultivo e meio de cultura, sendo o segundo fator o único que apresentou diferença estatística significativa para a variável brotação na avaliação do HC. As maiores médias para as variáveis altura e brotação foram obtidas nos últimos dias de avaliação, algo que já é previsto devido ao desenvolvimento natural de espécies vegetais.

#### 3.1 *Hypericum cavernicola*

Apesar de não haver diferença estatística significativa para o fator meio de cultura entre os tratamentos, os maiores números relacionados a altura foram observados no tratamento com  $\frac{1}{4}$  de MS, com a média máxima de 6.0cm, enquanto que os tratamentos com MS e  $\frac{1}{2}$  de MS obtiveram médias máximas entre 4.2 e 4.5cm, respectivamente (Tabela1).

Ainda de acordo com a Tabela 1, as análises relacionadas a variável brotação apresentaram diferença estatística apenas no tratamento  $\frac{1}{4}$  de MS, com média máxima de 10.7 brotos. Concomitantemente, o tratamento MS apresentou um comportamento estável a partir de 120 dias de avaliação, com média igual a 4.4 brotos, a qual se manteve até o fim do experimento. Para o tratamento  $\frac{1}{2}$  de MS, a evolução dos valores das médias foi observada, apesar de não diferirem estatisticamente entre si, resultando na maior média igual a 6.2

brotos.

Tabela 1. Média da altura (cm) e de brotação observadas em *Hypericum cavernícola* nos dias 30, 60, 90, 120 e 150, sob os tratamentos MS, ½ MS e ¼ MS.

DIAS	Altura			Brotação		
	MS	½ MS	¼ MS	MS	½ MS	¼ MS
30	1.7a	1.2a	1.7a	2.1 a	0.5 a	0.7 a
60	2.3a	1.4a	2.1a	3.5 a	3.7 a	4.7 ab
90	3.4a	2.9a	4.6a	3.8 a	5.5 a	7.2 ab
120	4.0a	3.4a	5.7a	4.4 a	5,9 a	8. ab
150	4.2a	4.5a	6.0a	4.4 a	6.2 a	10.7 b

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

Fonte: autores (2023).

### 3.2 *Hypericum teretiusculum*

De acordo com os dados fornecidos na Tabela 2, levando em consideração que os tratamentos não diferiram estatisticamente entre si, é possível observar, ainda assim, uma variação no crescimento e no desenvolvimento de brotos para a espécie. Para análise da variável altura, percebe-se a maior média, ao final de 150 dias de avaliação, no tratamento de ¼ MS, sendo igual a 5.8cm, enquanto a menor média obtida foi no tratamento de ½ MS, igual a 3.7cm. A discrepância nos dados relacionados ao tratamento com MS foi resultante da perda dos explantes por fatores bióticos durante o período de avaliação, sendo ocasionado devido a contaminação por fungos e bactérias.

Para a análise da variável brotação, apesar dos resultados não apresentarem diferença estatística, é possível observar que a maior taxa de variação para a espécie foi no tratamento ¼ MS com a média de 7.2 a partir dos 90 dias de avaliação, a qual manteve-se inalterada até o final do experimento, enquanto que a menor média do desenvolvimento de brotos foi obtida no tratamento de ½ MS, com o valor médio de 2.7 brotos, dados de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2. Média da altura (cm) e de brotação observadas em *Hypericum teretiusculum* nos dias 30, 60, 90, 120 e 150, sob os tratamentos MS, ½ MS e ¼ MS.

DIAS	Altura			Brotção		
	MS	½ MS	¼ MS	MS	½ MS	¼ MS
30	1.9a	1.6a	2.0a	4.2a	2.2a	4.4a
60	2.3a	1.6a	2.7a	5.0a	3.3a	7.1a
90	4.6a	2.3a	5.3a	5.2a	2.6a	7.2a
120	5.9a	3.1a	5.5a	6.4a	2.7a	7.2a
150	4.6a	3.7a	5.8a	5.0a	2.7a	7.2a

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

Fonte: autores (2023).

#### 4. Discussão

Os meios de cultura nutritivos fornecem aos explantes substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos vegetais, tendo participação no controle do desenvolvimento *in vitro* [22]. As diferentes concentrações de meio nutritivo MS no cultivo de *H. cavernícola* e *H. teretiusculum* apresentaram maior destaque no tratamento ¼ MS ao atingir as alturas médias de 6.0cm e 5.8cm, respectivamente, com 150 dias de experimento. Ao passo que os tratamentos MS e ½ MS obtiveram médias máximas de 4.2cm e 4.5cm, respectivamente, para a espécie HC de acordo com a Tabela 1. O fato sugere uma convergência com os dados fornecidos por Monfort *et al.* [23] ao demonstrar que o tratamento ¼ MS proporciona maior crescimento *in vitro* de plantas medicinais. Entretanto, o comportamento da espécie HT apresentou divergências, com médias de altura iguais a 5.9cm e 5.8cm nos tratamentos MS e ¼ MS, respectivamente (Tabela 2), considerando-se que houveram perdas de explantes por fatores bióticos durante os dias de avaliação para o tratamento MS, o que expõe a possibilidade de maior desenvolvimento da espécie nessas condições, sendo necessária uma continuidade na pesquisa para devidas confirmações.

A disposição de sacarose está diretamente relacionada à brotação dos explantes, os dados fornecidos por Pinto *et al.* [24] aconselham a utilização entre 30g/L e 45g/L da fonte energética para a produção de brotos com maiores números médios. Portanto, apesar de não haver interação entre os fatores e apenas o meio de cultura diferir estatisticamente para a variável brotação do *H.*

*cavernicola*, os tratamentos com micro e macronutrientes em diferentes disponibilidades – concentrações – no meio de cultura suplementados com 30g/L de sacarose obtiveram resultados relevantes para a compreensão de qual metodologia pode ser aplicada na indução de brotações das espécies analisadas. Tendo em vista que o tratamento com  $\frac{1}{4}$  de MS obteve as maiores médias chegando a 10.7 brotos para a espécie *H. cavernicola* e 7.2 brotos para o *H. teretiusculum*, ao final de 150 dias de avaliação, como expõe as Tabelas 1 e 2.

Durante a determinação de concentrações de sais minerais presentes no meio de cultura para os experimentos com mudas de *Marmeleiro CVS. MC e Adams* feito por Erig *et al.* [25], obteve-se a maior taxa de conservação com meio de cultura a 25% de MS, metodologia a qual representa o tratamento de  $\frac{1}{4}$  MS no presente trabalho, convergindo, também, para as maiores percentagens de enraizamento e comprimento médio das raízes.

Para a micropropagação de porta-enxerto de *videira Jales* [26], a utilização do meio de cultura MS com redução de macro e micronutrientes foi fundamental para a obtenção de maiores percentagens no número de raízes emitidas por explante, sendo o tratamento com  $\frac{1}{2}$  de meio MS o mais viável para o cultivo da espécie.

De acordo com Morais e colaboradores [27], a micropropagação está sendo empregada para o melhoramento de espécies vegetais como potencial fonte de compostos biologicamente ativos. Dessa forma, compreender a necessidade de inovação na metodologia é fundamental para a manutenção e o aprimoramento da exploração sustentável de espécies medicinais, além do estabelecimento de protocolos de micropropagação *in vitro*.

## 5. Conclusão

Dentre as diferentes concentrações do meio de cultura MS, o tratamento com  $\frac{1}{4}$  de MS apresentou maiores médias em relação à altura e à brotação para o *H. cavernicola*, sendo viável para a multiplicação e a regeneração da espécie *in vitro*. Enquanto que os tratamentos de MS e  $\frac{1}{2}$  MS apresentaram menores

taxas de crescimento, bem como brotação.

Os tratamentos de MS e ¼ MS para a espécie *H. teretiusculum* apresentaram as maiores taxas de crescimento em altura e brotação, sendo um destaque para a viabilidade da regeneração e para a multiplicação. A utilização da metade da concentração do meio de cultura, ½ MS, induziu menor crescimento e brotação para a espécie medicinal, sendo viável para a conservação.

Portanto, compreende-se que o tratamento ¼ MS acelera o processo de crescimento das espécies, ao passo que os tratamentos MS, para *H. cavernicola*, e ½ MS, para *H. teretiusculum*, tendem à conservação e crescimento lento, diminuindo a necessidade de frequentes subcultivos.

## REFERÊNCIAS

- [1] SANTANA, Elivani. **Aspectos químicos e farmacológicos do medicamento fitoterápico *Hypericum perforatum* L.** 2011. 38f. Trabalho de Conclusão de Curso – Farmácia. Faculdade de Educação e Meio Ambiente, Ariquemes. 2011.
- [2] ALVES, A. C. S.; MORAES, D. C.; FREITAS, G. B. L.; ALMEIDA, D. J. Aspectos botânicos, químicos, farmacológicos e terapêuticos do *Hypericum perforatum* L. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.16, n.3, p.593-606. 2014.
- [3] SILVA, L. R.; MARTINS, L. V.; CALOU, I. B. F.; MEIRELES, M. S. D.; FERREIRA, P. M. P.; PERON, A. P. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta Toxicol. Argent.** 23 (1): 36-43. 2015.
- [4] 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.
- [5] TAKAHASHI, I.; NAKANISHI, S.; KOBAYASHI, E.; NAKANO, H.; SUZUKI, K.; TAMAOKI, T. Hypericin and pseudohypericin specifically inhibit protein kinase C: possible relation to their antiretroviral activity. **Biochemistry and Biophysics Research Communication**, v.165, p.1207-12. 1989.
- [6] FENNER, R.; SORTINO, M.; RATES, S. K.; DALL'AGNOL, R.; FERRAZ, A.; BERNARDI, A. P.; ZACCHINO, S. Antifungal activity of some Brazilian *Hypericum* species. **Phytomedicine**, v. 12, n. 3, p. 236-240. 2005.

[7] CHAGAS, A. L. S.; MOURA, H. G. Q.; SÁ, K. R. B.; NASCIMENTO, L. C. D.; GUEDES, L. C. P.; MOURA, P. G. P.; CRUZ, T. K. Aplicações terapêuticas do *Hypericum perforatum* (erva-de-são-joão) no tratamento da ansiedade e depressão: Revisão interativa. **Anais da Faculdade de Medicina de Olinda**, Olinda, v.1, n.9, p. 55-63, abril. 2023.

[8] ZIRAK, N.; SHAFIEE, M.; SOLTANI, G.; MIRZAEI, M.; SAHEBKAR, A. *Hypericum perforatum* in the treatment of psychiatric and neurodegenerative disorders: Current evidence and potential mechanisms of actions. **Journal of Cellular Physiology**, v.234, p.8496-8506, novembro, 2018.

[9] APAYDIN, E.; MAHER, A.; SHANMAN, R.; BOOTH, M.; MILES, J.; SORBERO, M. *et al.* A systematic review of St. John's wort for major depressive disorder. **Systematic Reviews**, v.5, p.148, setembro, 2016.

[10] ADIBELLI, Z.; KARACAY, I.; DEMIR, M.; DURAN, C. St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) – Related Acute Kidney Injury. **Blood Purification**, v. 51, p.520-522, agosto, 2021.

[11] LIMA, C.S.M. *et al.* Influência de fitorreguladores no crescimento *in vitro* de partes aérea de *Mentha viridis*. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, supl.2, p.669-71, 2007.

[12] MATSUMOTO, K.; CARDOSO, L. D.; SANTOS, I. R. I. Manual de curadores de germoplasma – vegetal: conservação *in vitro*. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**. Brasília, DF. 2010.

[13] LAMEIRA, O. A. Cultivo da Ipecacuanha [*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes]. EMBRAPA, **Circular Técnica**. v.28, p. 1-4, 2002.

[14] SILVA, A. C. B.; LAMEIRA, O. A.; OLIVEIRA, H. S.; SOUZA, J. M. M.; MIRANDA, S. R.; FERREIRA, T. A. A. *et al.* Efeito de intensidade de luz no desenvolvimento de espécies medicinais e aromáticas em condições *in vitro*. **Contribuciones a las ciencias sociales**, v.16, n.5, p.2632-2649. 2023.

[15] LAMEIRA, O. A. *et al.* Efeitos de Diferentes Concentrações de Nitrato de Amônio e Nitrato de Potássio na Micropropagação da *Valeriana officinalis* L. (*valerianaceae*). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, p. 85044- 85049, 2020.

[16] NUNES, J. M. 2014. **Xantonas, benzopiranos e floroglucinois diméricos em culturas de tecidos de espécie de *Hypericum* nativas do sul do Brasil**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2014.

[17] GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. 1984. **Plant propagation by tissue culture**. Eversley: Exegetics, 709 p.

[18] NEVES, V. C.; PAIVA, P. D. O.; PAIVA, R.; PASQUAL, M.; PAIVA, L. V. Avaliação de diferentes concentração dos meios de cultura MS e Knudson para

propagação *in vitro* da bromélia-imperial. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.9, n.2, p.161-167. 2003.

[19] FERREIRA, T. A. A.; SILVA, A. C. B.; SANTOS, M. C. A.; GUEDES, A. S.; LAMEIRA, O. A. Conservação *in vitro* através da micropropagação de *Conocarpus scoparioides* (Cham. & Schlttdl.) Benth (Pataqueira). **International Journal of Development Research**, v. 12, Issue, 12, p. 60828-60831. 2022.

[20] MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, n.3, p.473–497.

[21] FERREIRA, D.F. 2011. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042.

[22] BORGES, C. S. 2010. **Multiplicação *in vitro* de Carqueja-Gaúcha (*Baccharis riograndensis* Malag. & J. E. Vidal)**. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Pelotas. 2010.

[23] MONFORT, L. E. F.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; ROSSI, Z. T. T.; LIMA, A. F.; SILVA, S. T.; SILVA, G. M. Micropropagação e germinação de sementes *in vitro* de Atroveran. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 62, n.2, p. 215-223, mar.-abr., 2015.

[24] PINTO, J. E. B. P.; ARELLO, E. F.; PINTO, C. A. B. P.; BARBOSA, M. H. P. Resposta a regeneração e crescimento de brotos *in vitro* de *Kielmeyera Coriacea* quando influenciado por diferentes concentrações de sais e de sacarose. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.21, n.1, p.57-61. 1996.

[25] ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W.; CHAVES, A. C. Enraizamento *in vitro* e aclimatização de mudas de *Marmeleiro CVS. MC e Adams*, utilizadas como porta-enxerto para a Pereira. **Scientia Agraria**, Universidade Federal do Paraná. Paraná, vol. 5, núm. 1-2, 2004, pp. 61-68. 2004.

[26] BIASI, L. A.; PASSOS, I. R. S.; POMMER, C. V. Micropropagação do Porta-Enxerto de videira Jales. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n.10, p.1587-1594, out. 1998.

[27] MORAIS, T.P.; LUZ, J. M. Q.; SILVA, S. M.; RESENDE, R. F.; SILVA, A. S. Aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, n.1, p.110-121, ago./mai., 2012.