



### ESTUDOS DE PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE CULTURA DE CÉLULAS INDIFERENCIADAS DE *Quillaja brasiliensis*, UMA ESPÉCIE ARBÓREA PRODUTORA DE SAPONINAS BIOATIVAS.

Laura Fernanda Gisch<sup>1</sup>; Arthur Germano Fett-Neto<sup>1\*</sup>

1. Laboratório de Fisiologia Vegetal, Centro de Biotecnologia e Departamento de Botânica, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

Autora: lauragisch@gmail.com \* Orientador: fettneto@cbiot.ufrgs.br

## INTRODUÇÃO

*Quillaja brasiliensis* (Quillajaceae) é uma árvore nativa do sul do Brasil popularmente conhecida como pau-sabão. Uma fração purificada de saponinas das folhas de *Q. brasiliensis*, QB-90, apresenta pronunciada atividade adjuvante quando adicionada a vacinas experimentais veterinárias (1). A atividade de QB-90 é comparável ao adjuvante comercial Quil-A, obtido a partir das cascas da árvore chilena *Q. saponaria* (Quillajaceae) (2,3). Tendo em vista a sustentabilidade da espécie e potencial uso comercial da fração de saponinas da *Q. brasiliensis* como adjuvantes de vacinas, este estudo tem como objetivo estabelecer culturas de células indiferenciadas (calos e suspensões celulares).

## MATERIAIS E MÉTODOS

### CALOS

- Ácido naftaleno acético 5mg/L
- Ácido naftaleno acético 5mg/L + Cinetina 0,1 mg/L
- 1 replicata = 4 calos de 1 cm<sup>3</sup>
- Indução no escuro a 24°C



Fig. 1 Indução dos calos

### SUSPENSÕES

- Ácido naftaleno acético 5mg/L
- Ácido naftaleno acético 5mg/L + Cinetina 0,1 mg/L
- 1 replicata = 15 mL
- Indução no escuro sob agitação a 24°C



Fig. 2 Indução das suspensões

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

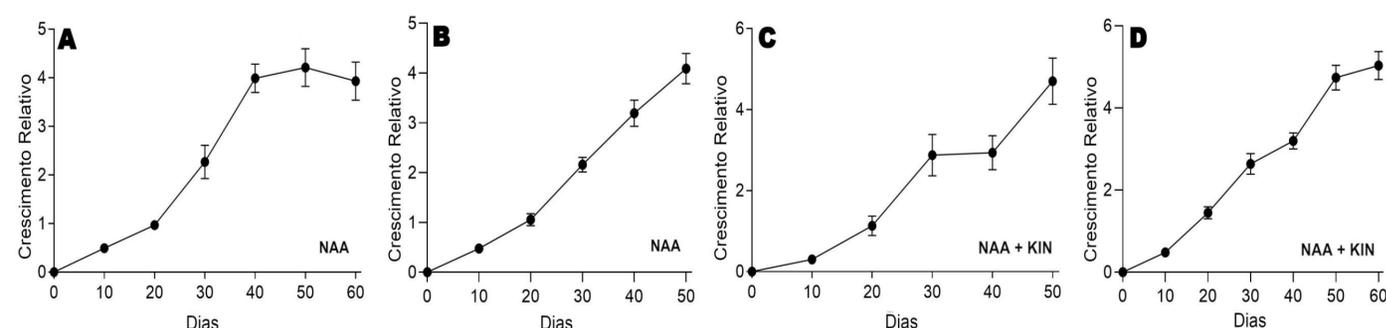


Fig. 3 Curvas de crescimento de calos oriundos de raiz (A e C) e oriundos de folhas (B e D) em dois diferentes balanços hormonais (NAA e NAA + KIN)

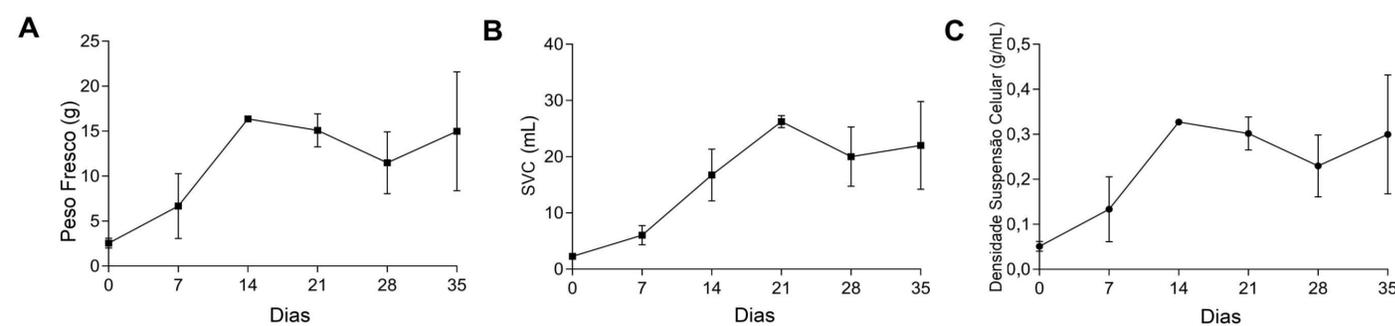


Fig. 4 Curvas de crescimento de suspensões celulares geradas a partir de calos. Peso fresco (A), Volume celular sedimentado das suspensões - SVC (B) e densidade das suspensões celulares (C)

A proliferação celular foi significativa tanto no método com os calos quanto nas suspensões. Estatisticamente os gráficos de ambos os métodos de cultivo se comportaram da forma esperada tendo todos uma fase de inicial de adaptação, seguida de uma fase de crescimento exponencial e logo após a estabilidade da curva. Avaliações iniciais por CCD e HPLC evidenciaram presença das frações ativas de saponinas nos diferentes cultivos. Conclui-se que cultivos assépticos são viáveis para geração de biomassa e acúmulo das frações-alvo de saponinas.

#### REFERÊNCIAS

1. de Costa, F., Yendo, A. C., Fleck, J. D., Gosmann, G., and Fett-Neto, A. G. (2011). Immunoadjuvant and anti-inflammatory plant saponins: characteristics and biotechnological approaches towards sustainable production. *Mini-Reviews Medicinal Chemistry*, 11, 857-80.
2. Fleck, J. D., Kauffmann, C., Spilki, F., Lencina, C. L., Roehe, P. M., Gosmann, G. (2006). Adjuvant activity of *Quillaja brasiliensis* saponins on the immune responses to bovine herpesvirus type 1 in mice. *Vaccine*, 24, 7129-7134.
3. Cibulski, S.P., Silveira, F., Mourglia-Ettlind, G. (2016). *Quillaja brasiliensis* saponins induce robust humoral and cellular responses in a bovine viral diarrhoea virus vaccine in mice. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 45, 1-8.

#### AGRADECIMENTOS

