

Influência de tipos de explantes e reguladores de crescimento na multiplicação *in vitro* de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) cultivar Genovese

Arrigoni-Blank, Maria de Fátima¹; Fonseca, Valéria Oliveira²; Costa, Andréa.Santos da²; Oliveira, Ana Catarina Lima de²; Paula, José Welton A. de²; Blank, Arie Fitzgerald²

¹UFS - Campus Prof. Alberto Carvalho - Núcleo de Ciências Biológicas – Itabaiana – SE, email: arrigoni@ufs.br.; ²UFS - Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos – DEA, 49100-000, São Cristóvão, Sergipe. (Apoio: RARO'S)

INTRODUÇÃO

O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) pertence à família Lamiaceae, é uma planta herbácea anual ou perene, dependendo do local em que é cultivado. Existem diversas finalidades para o seu uso na culinária, como planta ornamental, medicinal e aromática, sendo o seu óleo essencial valorizado no mercado internacional pelo teor de linalol (Blank et al., 2004).

A seleção clonal é considerada como um procedimento que pré-determina a uniformidade das plantas descendentes. O uso da micropropagação de planta é apropriado para clonar indivíduos melhorados produzindo progênes homogêneas (Lameira, 1997).

A disponibilidade e interação de auxinas e citocininas no meio de cultura levam ao crescimento e morfogênese *in vitro*, tendo uma importante influência na formação das raízes, parte aérea e calo em cultura de tecidos. O efeito fisiológico depende da concentração de cada regulador no meio, sendo que cada parte da planta tem uma resposta diferente às alterações das concentrações de auxinas e citocininas (Pozo et al., 2005). Concentração efetiva de cada regulador de crescimento irá variar e precisará ser ajustado de acordo com o genótipo da planta a ser cultivada, o tipo de tecido ou órgão.

Na micropropagação de *Piper longum* L. o maior número de brotos foi obtido com 2 mg.L⁻¹ de BAP e 1 mg.L⁻¹ de cinetina (Soniya e das, 2002). Para *Eupatorium triplinerve* (Martin, 2003/4) e *Ceropegia candelabrum* L. (Beena et al., 2003) as concentrações de 2mg.L⁻¹ de BAP e 0,5mg.L⁻¹ de AIB foram eficientes na indução e desenvolvimento das brotações. Já em *Sophora flavescens* 2mg.L⁻¹ BAP e 0,5mg.L⁻¹ de ANA promoveram uma maior proliferação dos brotos (ZHAO et al., 2003/4), enquanto que para *Orthosiphon spiralis* (Lour) Murr. 0,5mg.L⁻¹ de BAP foi suficiente para a sua multiplicação (Elangomathavan et al., 2003). Para porta-enxertos de *Prunus* o AIB e o AIA foi superior ao ANA quanto ao número e tamanho dos brotos (Silveira et al., 2001).

Vários estudos *in vitro* têm sido conduzidos com o gênero *Ocimum*, usando diferentes explantes, como segmento nodal (Ahuja, 1982), foliar (Phippen e Simon, 2000) inflorescência jovem (Singh e Sehgal, 1999) e botões axilares (Begun, 2002).

Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a influência de tipos de explantes e reguladores de crescimento na multiplicação *in vitro* de *O. basilicum* cultivar Genovese.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Melhoramento Vegetal do Departamento de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de Sergipe. Como fonte de explantes foram utilizadas plantas de *O. basilicum* cultivar Genovese cultivadas em vasos contendo pó de coco e vermiculita (1:1), calcário (1g.L⁻¹) e fertilizante Hortosafra® 6-24-12 + micronutrientes, mantidas em casa de vegetação. O meio de cultivo utilizado foi o MS (Murashige e Skoog, 1962) acrescido de 30 g.L⁻¹ de sacarose e 7 g.L⁻¹ de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,7 ± 0,1 e posteriormente autoclavado (121°C e 1,05 atm) por 20 minutos. Segmentos nodal, foliar e internodal foram coletados e mantidos em água corrente durante 30 minutos em seguida desinfestados com

álcool etílico 70% por 30 segundos, submersos em solução de hipoclorito de sódio 1% por 10 minutos e duas gotas de tween-20 por 100 mL de solução. Em seguida, em câmara de fluxo laminar, foram lavados com água destilada e autoclavada por 3 vezes e inoculados em meio de cultura. Após a inoculação, os frascos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas de luz, temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e intensidade luminosa de $30 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, utilizando-se o meio MS (controle) (T1); MS suplementado com cinetina ($9,3 \mu\text{M}$) + BAP ($8,9 \mu\text{M}$) + AIA ($2,2 \mu\text{M}$) (T2); MS + BAP ($8,9 \mu\text{M}$) + ANA ($5,4 \mu\text{M}$) (T3) e MS AIA ($4,4 \mu\text{M}$) (T4), sendo cinco repetições com cinco frascos contendo dois explantes cada frasco.

Aos 30 dias após implantação do ensaio, as variáveis, número de brotos, comprimento de brotos (cm), número de folhas e massa seca de parte aérea por explante (mg) foram avaliadas. Os valores obtidos foram submetidos à análise de variância e quando significativos, foram comparados pelo Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para as variáveis analisadas, houve diferenças significativas entre os diferentes reguladores de crescimento e tipos de explantes utilizados. Somente os segmentos nodais foram efetivos na regeneração de plantas de manjeriço cultivar Genovese *in vitro* (Tabelas 1 e 2).

Em relação ao número de brotos, a utilização de MS suplementado com cinetina ($9,3 \mu\text{M}$) + BAP ($8,9 \mu\text{M}$) + AIA ($2,2 \mu\text{M}$) proporcionou a maior média (3,6), enquanto que para o comprimento de brotos não houve diferenças significativas entre esse tratamento e o controle (Tabela 1). Resultados similares foram obtidos por Santana et al. (2006) com a linhagem NSL6421-05 e Fonseca et al. (2006) com o PI 197442- S₃ -Bulk 5 de *O. basilicum*, porém com valores maiores de comprimento de brotos, demonstrando que há uma interação entre o genótipo e reguladores de crescimento dentro do meio MS.

O número de folhas seguiu a mesma tendência do número de brotações, sendo no tratamento cinetina ($9,3 \mu\text{M}$) + BAP ($8,9 \mu\text{M}$) + AIA ($2,2 \mu\text{M}$) a maior média, em segmento nodal (Tabela 2).

No que se refere à massa seca de parte aérea, a utilização de $4,4 \mu\text{M}$ de AIA (T4), proporcionou o maior valor (Tabela 2).

Tabela 1. Número e comprimento (cm) de brotos de manjeriço (*O. basilicum*) cultivar Genovese cultivados *in vitro* em diferentes reguladores de crescimento. São Cristóvão-SE, UFS, 2007.

Tratamento	Explantes			Explantes		
	Nodal	Internodal	Foliar	Nodal	Internodal	Foliar
	----- Número de brotos -----			---- Comprimento de brotos (cm) ----		
T1	1,93 bA	0,0 aB	0,0 aB	0,24 bA	0,0 aB	0,0 aB
T2	3,64 aA	0,0 aB	0,0 aB	0,42 aA	0,0 aB	0,0 aB
T3	1,77 bA	0,0 aB	0,0 aB	0,20 bA	0,0 aB	0,0 aB
T4	1,84 bA	0,0 aB	0,0 aB	0,55 aA	0,0 aB	0,0 aB
CV (%)	7,10			5,09		

*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 2. Número de folhas e massa seca de parte aérea por explante (mg) de manjeriço (*O. basilicum*) cultivar Genovese cultivados *in vitro* em diferentes reguladores de crescimento. São Cristóvão-SE, UFS, 2007.

Tratamento	Explantos			Explantos		
	Nodal	Internodal	Foliar	Nodal	Internodal	Foliar
	----- Número de folhas -----			-- Massa seca de parte aérea (mg) --		
T1	6,8 bA	0,0 aB	0,0 aB	18,48 bA	0,00 aB	0,0 aB
T2	14,3 aA	0,0 aB	0,0 aB	10,76 cA	0,00 aB	0,0 aB
T3	5,0 bA	0,0 aB	0,0 aB	2,26 dA	0,00 aB	0,0 aB
T4	7,7 bA	0,0 aB	0,0 aB	31,25 aA	0,00 aB	0,0 aB
CV (%)		23,15			27,92	

*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

CONCLUSÃO

Explantos nodais e uso de meio MS adicionado com cinetina ($9,3 \mu\text{M}$) + BAP ($8,9 \mu\text{M}$) + AIA ($2,2 \mu\text{M}$) proporcionaram o maior número de brotos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHUJA, A.; VERMA, M.; GREWAL, S. Clonal propagation of *Ocimum* species by tissue culture. **Indian Journal Experimental Biology**, v. 20, p. 455-458, 1982.

BEENA, M.R.; MARTIN, K.P.; KIRTI, P.B.; HARIHARAN, M. Rapid *in vitro* propagation of medicinally important *Ceropegia candelabrum*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 72, p. 285-289, 2003.

BEGUN, F.; AMIN, M.N.; AZAD, M.A.K. *In vitro* rapid clonal propagation of *Ocimum basilicum*. **Plant Tissue Culture**, v. 12, n. 1, p. 27-35, 2002.

BLANK, A.F.; CARVALHO FILHO, J.L.S.; SANTOS NETO, A.L.; ALVES, P.B.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; SILVA-MANN, R.; MENDONÇA, M.C. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjeriço e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, v 22, n.1, p. 113-116, 2004.

ELANGOMATHAVAN, R.; PRAKASH, S.; KATHIRAVAN, K.; SESHADRI, S.; IGNACIMUTHU, S. High frequency *in vitro* propagation of kidney tea plant. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 72, p. 83-86, 2003.

FONSECA, V.O.; COSTA, A.S.; OLIVEIRA, A.C.L.; SANTOS, A.V.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; SANTANA, T.H.B.; BLANK, A.F. Interação de reguladores de crescimento e tipos de explantes na micropropagação de manjeriço (*Ocimum basilicum* L. - PI 197442-S3-Bulk 5). **Horticultura Brasileira**, v.24, n.1, Suplemento CD-ROM, p.2589-2592, 2006.

LAMEIRA, O. A. **Propagação *in vitro* e *in vivo* dinâmica de crescimento de células, nutrição e identificação de flavonóides em erva-baleeira (*Cordia verbenácea* L.)**. Lavras: UFLA, 1997. 88p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).

MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.

PHIPPEN, W.B.; SIMON, J.E. Shoot regeneration of young leaf explants from basil (*Ocimum basilicum* L.), **In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, v.36, p.250-254, 2000.

POZO, J.C.D.; LOPEZ-MATAS, M.A.; RAMIREZ-PARRA, E.; GUTIERREZ, C. Hormonal control of the plant cell cycle. **Biologia Plantarum**, v. 123, p. 173-183, 2005.

SANTANA, J.G.S.; FONSECA, V.O.; COSTA, A.S.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; BLANK, A.F. Influência de concentrações de BAP na micropropagação de manjeriço (*Ocimum basilicum* L. - NSL6421-S2-05). **Horticultura Brasileira**, v.24, n.1, Suplemento CD-ROM, p.2625-2628, 2006.

SILVEIRA, A.C.P.; FACHINELO, J.C.; FORTES, G.R.de L.; CITADIN, I.; RODRIGUES, A.C.; QUEZADA, A.C.; SILVA, J.B. Multiplicação *in vitro* de porta-enxertos do gênero *Prunus* sob diferentes concentrações de BAP em dois meios de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, n.3, p. 488-492, 2001.

SINGH, N.K.; SEHGAL, C.B. Micropropagation of "Holy basil" (*Ocimum sanctum* L.) from young inflorescences of mature plants. **Plant Growth Regulation**, v. 29, p. 161-166, 1999.

SONIYA, E.V.; DAS, M.R. *In vitro* micropropagation of *Piper longum* – an important medicinal plant. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 70, p. 325-327, 2002.

PALAVRAS-CHAVE

Lamiaceae, segmentos nodais, cultivo *in vitro*