

Influência de tipos de explantes e reguladores de crescimento na multiplicação *in vitro* de genótipos de hortelã-japonesa (*Mentha arvensis* L.).

Fonseca, Valéria Oliveira¹; Costa, Andréa Santos da¹; Oliveira, Ana Catarina Lima de¹; Arrigoni-Blank, Maria de Fátima²; Blank, Arie Fitzgerald¹.

¹UFS - Cidade universitária prof. José Aloísio de Campos - DEA, 49100-000 São Cristóvão-SE. Email: valeriaoff81@uol.com.br; ²UFS -Campus Prof. Alberto Carvalho - Núcleo de ciências Biológicas - Itabaiana - SE. Email: arrigoni@ufs.br (Apoio: CNPq).

INTRODUÇÃO

A hortelã-japonesa (*Mentha arvensis* L. - Lamiaceae) é uma espécie aromática, originária do sul da China cujo óleo essencial se distingue de outras mentas pela ausência de cineol e por elevado teor de mentol. O mentol é empregado como flavorizante e aromatizante de alimentos, bebidas, perfumes, produtos de higiene bucal e preparações farmacêuticas, no tratamento de problemas respiratórios e gastrointestinais (Kumar *et al.*, 2002).

A micropropagação é uma técnica efetiva para multiplicação rápida de espécies nas quais é necessário obter alta uniformidade de progênie. Para o sucesso de métodos de micropropagação é necessária a seleção dos explantes adequados, estabelecendo-se condições de desinfestação e cultura; o estabelecimento das condições físicas e fisiológicas de desenvolvimento dos explantes e o enraizamento das partes aéreas formadas após subcultivos sucessivos (Grattapaglia e Machado, 1998). Na propagação *in vitro* a composição e a concentração dos reguladores de crescimento no meio de cultura são fatores determinantes para o crescimento e padrão de desenvolvimento da maioria dos sistemas de cultivo *in vitro*.

Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar diferentes reguladores de crescimento e tipos de explantes na micropropagação de quatro genótipos de *Mentha arvensis* L.

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 utilizados segmento nodal, foliar e internodal provenientes de quatro genótipos de *M. arvensis* (UFC, IAC-701-01, IAC-701-02 e IAC-701-04) estabelecidos *in vitro*. 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. Após a inoculação, os frascos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 12 horas de luz, temperatura de 25±2°C e intensidade luminosa de 60 µmol. m⁻².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 µM) + BAP (8,9 µM) + AIA (2,2 µM) (T2); MS + BAP (8,9 µM) + ANA (5,4 µM) (T3) e MS+ AIA (4,4 µM) (T4), sendo 6 repetições com quatro frascos contendo dois explantes cada frasco. Aos 35 dias após implantação do ensaio as variáveis, regeneração (%), número de brotos, comprimento de brotos (cm), número de folhas e raízes (%) foram avaliadas. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância pelo teste F e, quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (p≤0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os diferentes segmentos utilizados apresentaram diferenças significativas para todas as variáveis analisadas, sendo o segmento nodal o único que proporcionou regeneração de plantas. Resultados diferentes foram obtidos por Shasany et al. (1998), onde os segmentos internodais foram eficientes na regeneração de *M. arvensis* cultivares Himalaia e Kalka. Isto sugere que mesmo dentro de uma mesma espécie, podem ocorrer respostas diferentes dependendo do local de cultivo, cultivares entre outros. Já o segmento nodal, os genótipos IAC-701-01 e UFC não apresentaram diferenças significativas, exceto pelo tratamento BAP (8,9 μM) + ANA (5,4 μM) (T3) do genótipo IAC-701-01 que ficou abaixo da média. O maior número de brotações foi observado no tratamento AIA (4,4 μM) (T4), genótipos IAC-701-02. (Tabela 1).

Tabela 1. Número médio de brotos formados em explantes de *M. arvensis*, genótipos UFC, IAC-701-01, IAC-701-02, IAC-701-04, cultivados em diferentes reguladores de crescimento. São Cristóvão-SE, UFS, 2007.

Reguladores de crescimento (μM)	Genótipos			
	IAC-701-01	IAC-701-02	UFC	IAC-701-04
..... Segmento Foliar				
Controle	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA β	0,166 aA β
9,3CIN + 8,9BAP+2,2AIA	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA β
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA β
4,4AIA	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA β
..... Segmento Nodal				
Controle	1,569 aA α	1,694 bA α	1,916 aA α	2,027 bA α
9,3CIN + 8,9BAP + 2,2AIA	1,708 aA α	1,930 bA α	1,875 aA α	1,805 bA α
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 bB α	1,916 bA α	1,875 aA α	0,666 cB α
4,4AIA	1,500 aC α	4,408 aA α	2,000 aBC α	2,569 aB α
..... Segmento Internodal				
Controle	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA β
9,3CIN + 8,9BAP+2,2AIA	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA β
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA β
4,4AIA	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA β
CV(%)	14,73			

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

Quanto à massa seca de caule proveniente de segmentos nodais, o genótipo UFC foi o que apresentou as menores médias em todos os tratamentos (Tabela 2). Analisando cada genótipo, a utilização de 9,8 μM de BAP + 5,4 μM de ANA, foi o que proporcionou menores valores para os genótipos IAC-701-01 e UFC, enquanto que o genótipo UFC não houve diferenças significativas entre os diferentes reguladores de crescimento (Tabela 2).

Em relação à massa seca de folha não houve diferença significativa entre os genótipos IAC-701-01, IAC-701-02 e IAC-701-03 quando foi utilizado o meio MS na ausência de reguladores de crescimento, enquanto que o genótipo UFC foi o que obteve os menores valores. A utilização de BAP (8,9 μM) + ANA (5,4 μM) promoveu a maior massa seca de folha no genótipo IAC-701-04. (Tabela 3).

Analisando cada genótipo, nota-se que o genótipo UFC, não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, enquanto que o genótipo IAC-701-04 a ausência de reguladores de crescimento e a adição de BAP (8,9 μM) + ANA (5,4 μM) proporcionaram as maiores médias. Já os genótipos IAC-701-01 e IAC-701-02 o meio MS sem reguladores de crescimento e suplementado com AIA (4,4 μM) mostraram mais eficiente no acúmulo de massa seca de folhas (Tabela 3).

Tabela 2. Massa seca (mg) de caule de *M. arvensis* genótipos UFC, IAC 701-01, IAC-701-02 e IAC 701-04 cultivados em diferentes reguladores de crescimento. São Cristóvão-SE, UFS, 2007.

Tratamento (μM)	Genótipos			
	IAC-701-01	IAC-701-02	UFC	IAC-701-04
 Segmento Foliar			
Controle	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA α	0,000 aA β
9,3CIN + 8,9BA P+ 2,2AIA	0,000 aA γ	0,000 aA β	0,000 aA α	0,000 aA β
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 aA α	0,000 aA β	0,000 aA α	0,000 aA β
4,4AIA	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA α	0,000 aA β
 Segmento Nodal			
Controle	2,863 aA α	2,850 bA α	0,004 aB α	3,032 aA α
9,3CIN + 8,9BAP+2,2AIA	3,170 aB α	6,402 aA α	0,004 aD α	2,015 bC α
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 bB α	2,455 cA α	0,003 aB α	2,398 abA α
4,4AIA	3,554 aA α	3,737 bA α	0,003 aC α	2,123 abB α
 Segmento Internodal			
Controle	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA α	0,000 aA β
9,3CIN + 8,9BAP + 2,2AIA	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA α	0,000 aA β
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 aA α	0,000 aA β	0,000 aA α	0,000 aA β
4,4AIA	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA α	0,000 aA β
CV(%)	18,45			

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

Tabela 3. Massa seca de folha de *M. arvensis* para genótipos UFC, IAC-701-01, IAC-701-02 e IAC-701-04 cultivados em diferentes reguladores de crescimento. São Cristóvão-SE, UFS, 2007.

Tratamento (μM)	Genótipos			
	IAC-701-01	IAC-701-02	UFC	IAC-701-04
 Segmento Foliar			
Controle	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA α	0,000 aA β
9,3CIN + 8,9BAP + 2,2AIA	0,000 aA γ	0,000 aA β	0,000 aA α	0,000 aA β
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 aA α	0,000 aA β	0,000 aA α	0,000 aA β
4,4AIA	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA α	0,000 aA β
 Segmento Nodal			
Controle	2,583 abA α	2,087 abA α	0,004 aB α	2,184 aA α
9,3CIN + 8,9BAP + 2,2AIA	2,050 bA α	1,904 bA α	0,003 aB α	1,438 bA α
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 cB α	0,533 cB α	0,003 aB α	1,922 aA α
4,4AIA	3,025 aB α	5,775 aA α	0,004 aD α	1,690 bC α
 Segmento Internodal			
Controle	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA α	0,000 aA β
9,3CIN + 8,9BAP + 2,2AIA	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA α	0,000 aA β
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 aA α	0,000 aA β	0,000 aA α	0,000 aA β
4,4AIA	0,000 aA β	0,000 aA β	0,000 aA α	0,000 aA β
CV(%)	19,30			

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

CONCLUSÃO

Segmentos nodais foram efetivos na indução de brotos em genótipos de *M. arvensis*. A utilização de 4,4 μM de AIA promoveu o maior número de brotos por explante, no genótipo IAC-701-02, a partir de segmentos nodais.

O maior acúmulo de massa seca de caule e folha foi obtido pelo genótipo AC-701-02, quando o meio MS foi suplementado com 9,3 μM de cinetina + 8,9 μM de BAP + 2,2 μM de AIA e 4,4 μM de AIA, respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA - CNPH, 1998. p.183-260.

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

SHASANY, A. K.; KHANUJA, S. P. S.; DHAWAN, S.; YADAV, U.; SHARMA, S.; KUMAR, S. High regenerative nature of *Mentha arvensis* internodes. **Indian Academy of Sciences**, n.5, p. 641-646,1998.

KUMAR SJR; BAHL RP; BANSAL AK; GUPTA V; SINGH SS. 2002. High economic returns from companion and relay cropping of bread wheat and menthol mint in the winter-summer season in north Indian plains. **Industrial Crops and Products**, 15:103-114.

PALAVRAS-CHAVES

Mentha arvensis; Lamiaceae; cultivo *in vitro*; genótipos, segmento nodal, foliar e internodal