

**DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* DE GEMAS AXILARES DE *Ocimum selloi* Benth.**

LUCILA ELIZABETH FRAGOSO MONFORT<sup>1</sup>; CAROLINA MARIANE MOREIRA<sup>2</sup>; JOSÉ EDUARDO BRASIL PEREIRA PINTO<sup>3</sup>; SUZAN KELLY VILELA BERTOLUCCI<sup>4</sup>; HELENA BOTELHO DE ANDRADE<sup>5</sup>

**RESUMO**

*Ocimum selloi* Benth (Lamiaceae) é um subarbusto perene, nativo das regiões sul e sudeste do Brasil, conhecido popularmente como atroveran. Objetivou-se avaliar o desenvolvimento *in vitro* de gemas axilares de atroveran. Plântulas de atroveran estabelecidas *in vitro* serviram como doadoras das gemas. O experimento foi em fatorial 3 x 3, sendo 3 concentrações do meio de cultura MS (MS, MS/2 e MS/4) e 3 concentrações de sacarose (0,0%, 1,5% e 3,0%), empregando delineamento inteiramente casualizado, com 5 repetições. Aos 30 dias, avaliaram-se número, comprimento e biomassa seca das brotações e raízes. O uso de sacarose foi essencial para o crescimento das gemas axilares. Recomenda-se a concentração de 1,5% de sacarose e o MS/4, para o desenvolvimento de gemas axilares de *O. selloi*.

**Palavras-chaves:** Planta medicinal, cultura de tecidos, sacarose, atroveran.

**INTRODUÇÃO**

O gênero *Ocimum* contém cerca de 30 espécies nativas dos trópicos e subtropicais, algumas delas também encontradas em regiões temperadas (Vieira & Simon, 2000). *Ocimum selloi* Benth, conhecida popularmente como atroveran, é uma planta medicinal, herbácea nativa do Brasil, pertence à família Lamiaceae. Tem largo uso popular, como antidiarreico, antiespasmódico e antiinflamatório (Lorenzi & Matos, 2002).

A micropropagação é a aplicação de maior impacto para a cultura de tecidos vegetais, servindo a programas de introdução, armazenamento e intercâmbio de germoplasma, contribuindo para prevenir perda de variabilidade genética. Além de rápida multiplicação, a micropropagação pode ser realizada durante o ano todo, em grande quantidade, sem problemas de sazonalidade (George et al., 2008).

Diversas formulações de meios básicos têm sido utilizadas no cultivo *in vitro*. Não há uma formulação padrão, mas o meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com suas modificações e diluições, tem sido utilizado com sucesso para diversas espécies. Durante o cultivo *in vitro*, as soluções de sais e açúcares que compõem os meios de cultura não exercem efeito puramente nutritivo, mas também influenciam o crescimento celular e a morfogênese, por meio de propriedades osmóticas (George et al., 2008). A concentração de sacarose é um fator determinante no crescimento, pois, em concentrações elevadas, podem inibir a síntese de clorofila, provocando o não desenvolvimento da capacidade fotoautotrófica e, ainda, provocar crescimento reduzido e morte de mudas durante a fase de aclimatização (Caldas et al., 1990).

No estudo realizado por Couto et al. (2004), com multiplicação *in vitro* de porta-enxertos de *Prunus* sp., observou-se efeito da concentração de sais do meio MS na multiplicação dos explantes. O maior número médio de brotações por explante foi obtido no meio MS/2, enquanto o maior comprimento médio de brotações foi no meio MS com concentração original de sais. Nicoloso et al. (2003), comparando fontes de carbono, observaram que a sacarose, na concentração de 3,0%, foi a melhor fonte de carboidratos para a altura, número de brotações, número total de segmentos nodais

---

<sup>1</sup> Doutoranda em Fitotecnia, DAG/UFLA, lucilaagro@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Mestranda em Genética e Melhoramento de Plantas, DAG/UFLA; carolinammoreira@hotmail.com

<sup>3</sup> Professor Titular do DAG/UFLA, jeduardo@dag.ufla.br

<sup>4</sup> Professora Assistente do DAG/UFLA, suzan@dag.ufla.br

<sup>5</sup> Estudante de Agronomia do 8 semestre, UFLA, heleninhaba@yahoo.com.br

por planta, de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, demonstrando que esse carboidrato é o mais apropriado ao cultivo *in vitro*.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de desenvolver gemas axilares de atroveran em condições *in vitro*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG. A exsicata da espécie está depositada no herbário ESAL, do Departamento de Biologia da UFLA, sob o registro nº 7474.

Plantas de atroveran estabelecidas *in vitro* serviram como doadoras de gemas axilares. Os segmentos foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio de cultura MS em diferentes variações dos sais, suplementado com diferentes concentrações de sacarose.

O meio de cultura foi solidificado com 0,6% de ágar, o pH foi ajustado para  $5,7 \pm 0,1$  e, em seguida, autoclavado a 120°C a 1 atm, por 20 min. Após a inoculação, os tubos foram fechados com tampas plásticas e vedados com parafilme. Os tubos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 h luz/8 h escuro, sob intensidade luminosa de  $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , a temperatura de  $26 \pm 0,1^\circ\text{C}$ .

O experimento foi em fatorial 3 x 3, sendo 3 as variações do MS (MS, MS/2 e MS/4) e 3 concentrações de sacarose (0,0%, 1,5% e 3,0%), totalizando 9 tratamentos. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições, sendo 10 tubos por repetição e uma gema axilar por tubo.

Aos 30 dias, avaliaram-se a altura das brotações (cm), biomassa das brotações (mg), número de raiz, comprimento de raiz (cm) e biomassa de raiz (mg). A altura da brotação e o comprimento de raiz foram determinados com o auxílio de uma régua. Para a altura, a medição foi feita da base da brotação até a gema apical. Para a determinação da biomassa seca, as brotações e as raízes foram colocadas em sacos de papel kraft e acondicionadas em estufa de circulação forçada de ar, a 60°C, por 5 dias. Após esse período, o material vegetal foi mensurado em balança de precisão.

Os dados obtidos foram submetidos à ANAVA pelo teste F ( $p < 0,05$ ) e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ), utilizando-se o software Sisvar<sup>®</sup>, versão 5.0 (Ferreira, 2007).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A interação foi significativa para comprimento e biomassa das brotações e das raízes e para o número de raízes.

Os valores médios da interação da altura e biomassa das brotações estão apresentados na Tabela 1. Para altura da brotação a concentração de 1,5% de sacarose, o meio MS/4 mostrou ser o mais indicado. Já para a concentração de 3,0% de sacarose, o melhor tratamento foi o MS. Para todos os meios utilizados, a sacarose, na concentração de 1,5%, proporcionou efeito positivo, ao contrário da ausência de sacarose.

Para biomassa seca da brotação, a ausência de sacarose não apresentou diferença significativa para as variações do meio MS. Na concentração de 1,5% de sacarose, os meios MS/2 e MS ocasionaram aumento da biomassa, não diferenciando entre si. A biomassa da brotação produzida na concentração de 3,0% de sacarose no MS completo foi superior às diluições do MS. Para os meios MS/4 e MS/2, a sacarose na concentração de 1,5% afetou positivamente a biomassa. Com relação ao MS, as concentrações de 1,5% e 3,0% de sacarose não diferenciaram entre si. A ausência de sacarose no meio de cultura não houve incremento na biomassa.

A concentração de 1,5% sacarose favoreceu o desenvolvimento da plântula cultivada *in vitro*, evidenciando que a presença desse carboidrato no meio de cultivo foi essencial para o desenvolvimento da plântula. Maiores concentrações de sacarose aumentam o efeito osmótico no meio de cultura, podendo prejudicar o desenvolvimento da plântula cultivada *in vitro*.

**XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA**  
**27 de setembro a 01 de outubro de 2010**

Tabela 1 - Valores médios da altura da brotação (cm) e da biomassa seca da brotação (mg) de *Ocimum selloi* na interação do meio de cultura e da concentração de sacarose, aos 30 dias. UFLA, Lavras-MG, 2010.

Meio de cultura	Sacarose (%)		
	0,0	1,5	3,0
<b>Altura da brotação</b>			
MS/4	0,10 c A	2,80 a A	0,80 b B
MS/2	0,10 c A	2,44 a B	0,46 b B
MS	0,10 c A	1,80 a C	1,04 b A
<b>Biomassa da brotação</b>			
MS/4	0,14 c A	5,12 a B	3,22 b B
MS/2	0,10 c A	6,62 a A	3,08 b B
MS	0,08 b A	6,70 a A	7,72 a A

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas na linha e letras maiúsculas na coluna.

Fráguas et al. (2003) obtiveram crescimento de plântulas de orquídeas, em meio de cultura MS contendo 2,0% de sacarose. Sorace et al. (2008) constataram que o tratamento contendo 4,0% de sacarose e a metade da concentração dos macronutrientes do meio MS foi o mais eficiente para o desenvolvimento vegetativo e o enraizamento da orquídea *Oncidium baueri*.

A Tabela 2 apresenta os valores médios da interação para o número, comprimento e biomassa de raízes. Não houve formação de raiz na ausência de sacarose. Dados semelhantes foram observados por Calvete et al. (2002) no cultivo de morangueiro, onde na ausência de sacarose, não houve desenvolvimento da raiz *in vitro*. A análise de dados indicou que tanto para o MS/4 quanto para o MS/2, o uso de 1,5% de sacarose possibilitou maior número de raízes. Já para o MS, a concentração de 3,0% de sacarose causou aumento desse número, comparada com as outras concentrações.

Tabela 2 - Valores médios do número de raízes, comprimento de raízes (cm) e de biomassa seca de raízes (mg) de *Ocimum selloi* na interação do meio de cultura e da concentração de sacarose, aos 30 dias. UFLA, Lavras-MG, 2010.

Meio de cultura	Sacarose (%)		
	0,0	1,5	3,0
<b>Número de raízes</b>			
MS/4	0,00 c A	5 a A	3 b B
MS/2	0,00 c A	5 a A	3 b B
MS	0,00 c A	2 b B	4 a A
<b>Comprimento de raízes</b>			
MS/4	0,00 c A	2,02 a A	1,26 b A
MS/2	0,00 c A	1,40 a B	0,72 b B
MS	0,00 b A	0,64 a C	0,68 a B
<b>Biomassa de raízes</b>			
MS/4	0,00 c A	0,92 a A	0,72 b A
MS/2	0,00 c A	0,74 a A	0,28 b B
MS	0,00 b A	0,06 b B	0,38 a B

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas na linha e letras maiúsculas na coluna.

Os dados obtidos indicam que esse carboidrato é essencial para o enraizamento *in vitro* de gemas axilares de atoveran. Para 1,5% e 3,0% de sacarose, o MS/4 possibilitou maior comprimento de raízes. A utilização de 1,5% de sacarose proporcionou maior formação de tecido radicular nos meios MS/4 e MS/2. O uso de 1,5% e 3,0% de sacarose não evidenciaram efeitos significativos para o MS completo.

A biomassa de raiz (Tabela 2) produzida na concentração de sacarose de 1,5% foi maior nos meios MS/4 e MS/2. O MS/4 apresentou efeito positivo no uso de 3,0% de sacarose. Para o meio MS/4, o uso de 1,5% de sacarose causou um aumento na biomassa, tendo o mesmo sido observado para o MS/2. Para o MS completo, a concentração de 3,0% de sacarose demonstrou melhor efeito.

No cultivo *in vitro* de copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica*) com diferentes concentrações de sacarose, os melhores resultados para comprimento e número de raízes foram observados somente na presença de sacarose, em concentrações de 5,1% a 5,7% (Ribeiro, et al., 2009).

Calvete et al. (2002) observaram que doses crescentes de sacarose promoveram acréscimos de 0,14 mg na massa seca por grama de sacarose em morangueiro. O aumento da dosagem de 1,5% para 6,0% de sacarose dobrou o peso da matéria seca do sistema da raiz, passando de 4,3 para 8,7 mg.

## AGRADECIMENTOS

A CAPES, CNPq e FAPEMIG pelo fornecimento de bolsas e auxílio financeiro.

## CONCLUSÃO

O uso de sacarose foi essencial para o desenvolvimento de gemas axilares de *O. selloi in vitro*.

Recomenda-se a concentração de 1,5% de sacarose e o MS/4 para o desenvolvimento de gemas axilares de *O. selloi in vitro*.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

CALDAS, L. S.; HARIDASON, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCPT, 1990. 443 p.

CALVETE, E. O.; AZEVEDO, M.; BORDIGNON, M. H.; SUZIN, M. Análises anatômicas e da biomassa em plantas de morangueiro cultivadas *in vitro* e *ex vitro*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 4, p. 649-653, dez. 2002.

COUTO, M.; OLIVEIRA, R. P.; FORTES, G. R. L. Multiplicação *in vitro* dos porta-enxertos de *Prunus* sp. 'Barrier' e 'Cadaman'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 26, n. 1, p. 5-7, abr. 2004.

FERREIRA, D. F. SISVAR: sistema de análise de variância versão 5.0. Lavras: Departamento de Ciências Exatas, 2007.

FRÁGUAS, C. B.; VILLA, F.; SOUZA, A. V.; PASQUAL, M.; DUTRA, L. F. Crescimento *in vitro* de plântulas de orquídeas oriundas da hibridação entre *Cattleya labiata* e *Laelia itambana*. **Ceres**, Viçosa, MG, v. 50, n. 292, p. 719-726, 2003.

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; KLERK, G. J. de. **Plant propagation by tissue culture**. 3. ed. Dordrech: Background, 2008. v. 1, 501 p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 254 p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, July 1962.

NICOLOSO, F. T.; ERIG, A. C.; RUSSOWSKI, D.; MARTINS, C. F. Efeito de doses e fontes de carboidratos no crescimento de plantas de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivadas *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 1, p. 84-90, jan./fev. 2003.

RIBEIRO, M. N. O.; PASQUAL, M.; VILLA, F.; CAVALLARI, L. da L. Desenvolvimento *in vitro* de copo-de-leite: efeito das concentrações de sacarose e de ácido giberélico. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 575-580, jul./set. 2009.

SORACE, M.; FARIA, R. T. de; GOMES, G. P. Crescimento *in vitro* de *Oncidium baueri* (Orchidaceae) em diferentes concentrações de macronutrientes e sacarose. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 775-782, out./dez. 2008.

VIEIRA, R. F.; SIMON, J. E. Chemical characterization of basil (*Ocimum* spp.) found in the markets and used in traditional medicine in Brazil. **Economic Botany**, Bronx, v. 54, n. 2, p. 207-216, Apr./June 2000.