

Influência de Diferentes Concentrações de Sais de MS e Açúcares no Cultivo *In Vitro* de Manjeriçã Roxo (*Ocimum basilicum* L.)

Mirian de Farias Ribeiro¹, Lorena Pastorini Donini¹, Joseane Almeida de Souza², Ana Paula Guisso¹,
Isleine Ferreira-Moura³, Vera Lúcia Bobrowski⁴ e Judith Viégas⁴

Introdução

O manjeriçã (*Ocimum basilicum* L.) é uma planta aromática, pertencente à família Lamiaceae, rica em óleos essenciais, cujas propriedades medicinais estão consagradas pelo uso popular e que vem sendo usada desde os tempos antigos. Também, é muito utilizada na culinária por ter folhas saborosas e decorativas [1]. Devido ao fato de apresentar óleos essenciais e princípios ativos importantes, o manjeriçã vem despertando, atualmente, grande interesse industrial. É uma planta muito utilizada, popularmente, como medicinal, pois devido a suas propriedades como estimulante, expectorante e carminativa é indicada para o tratamento de febre, infecções trato respiratório, pneumonia, tosse, diarreias, entre outras doenças [2, 3, 4].

A cultura de tecidos é uma importante técnica para propagação de plantas e vem sendo utilizada com sucesso em várias espécies. Estas técnicas são muito importantes, tanto na propagação de plantas sadias como na propagação clonal das espécies que tem alto valor comercial para o país. A grande vantagem desta técnica é a obtenção de uma grande quantidade de plantas de elevada qualidade num período de tempo bastante reduzido. Neste processo são isolados pequenos fragmentos do tecido vivo de um organismo, os explantes, os quais são cultivados sob condições assépticas em um meio de cultura específico por períodos indeterminados. Os explantes podem ser de diferentes tamanhos, grandes como plântulas e órgãos ou pequenos como células ou protoplastos [5,6].

Nos últimos anos, aumentou o interesse da utilização da técnica de micropropagação em plantas aromáticas e medicinais, o que proporciona uma produção em larga escala. No caso da espécie *O. basilicum*, o grande interesse das indústrias farmacêuticas não está só no fato das propriedades medicinais desta planta, mas também pelo valor como planta aromática e produtora de óleo essencial utilizado em perfumes [4].

Este trabalho teve como objetivo avaliar diferentes fontes de açúcares em diversas concentrações no cultivo *in vitro* de manjeriçã roxo.

Material e métodos

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia Celular do Departamento de Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

Como explantes, foram utilizadas gemas apicais, com cerca de 1,5 cm de comprimento, de plântulas de manjeriçã roxo obtidas de sementes germinadas *in vitro*. Os explantes foram colocados em frascos contendo 30 mL de meio de cultivo MS [7] com diferentes concentrações dos sais (MS = concentração total e MS/2 = metade da concentração total) e com diferentes açúcares (sacarose, maltose e glicose) em diferentes concentrações (1%, 2% e 3%) totalizando 18 tratamentos. Os meios foram adicionados de 0,1 g L⁻¹ de mio-inositol e 8 g L⁻¹ de ágar, o pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem.

Toda a manipulação do experimento foi realizada em câmara de fluxo laminar horizontal e os frascos foram mantidos em câmara de crescimento a 25 ± 2° C e fotoperíodo de 16 horas. Aos 30 dias, o material foi avaliado quanto ao número de folhas (NF) e altura da planta (AP).

A unidade experimental foi composta por um frasco com cinco explantes. O experimento foi conduzido como um fatorial A x B x C (A = concentração dos sais do meio MS, B = açúcares, C = concentração de açúcar), delineado inteiramente ao acaso, com quatro repetições por tratamento. Os resultados obtidos foram analisados com o auxílio do pacote estatístico SANEST [8], sendo aplicado o teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Resultados e discussão

A análise da variação mostrou que para número de folhas houve diferenças significativas para concentrações de açúcar e para concentração dos sais de MS. Observou-se que a adição de qualquer açúcar (sacarose, glicose e maltose) nas concentrações de 2% ou 3% em meio MS com concentração total dos sais proporcionou maior número de folhas (Tab. 1).

Para altura da planta, a análise da variação mostrou que houve diferenças significativas para a interação entre

1. Estagiária do Departamento de Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas. Caixa Postal 354, Pelotas, RS, CEP 96010-900. E-mail: mirianpelotas@yahoo.com.br

2. Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas. Caixa Postal 354, Pelotas, RS, CEP 96010-900.

3. Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de Produção Vegetal, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas. Caixa Postal 354, Pelotas, RS, CEP 96010-900.

4. Professora Adjunta do Departamento de Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas. Caixa Postal 354, Pelotas, RS, CEP 96010-900

Apoio financeiro: CAPES e CNPq.

açúcares, concentrações dos açúcares e concentração dos sais de MS. O meio MS com concentração total dos sais adicionado de sacarose ou glicose proporcionou maior média de altura de planta (Tab. 2).

Em trabalho realizado por Couto *et al.* [9] sobre 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 no meio MS com concentração original de sais, discordando dos resultados do presente trabalho, onde o maior número de folhas e altura de planta foi obtido no meio MS com concentração total de sais.

Em outro trabalho, sobre multiplicação *in vitro* da amoreira-preta, realizado por Villa *et al.* [10], o número de folhas foi estimulado pelo aumento da concentração de sais de MS. Quanto maior a concentração de sais, maior o número de folhas, estando de acordo com os resultados encontrados neste trabalho.

Com relação aos diferentes açúcares utilizados, os resultados deste trabalho estão de acordo com Nicoloso *et al.* [11] que realizaram um trabalho sobre o efeito de doses e fontes de carboidratos no crescimento de plantas de ginseng brasileiro cultivadas *in vitro*, onde o número de brotações por explante foi influenciado pela fonte e dose de carboidratos. A sacarose, tanto na dose de 15 g L⁻¹ como na de 30 g L⁻¹ houve o menor número de brotações, apesar de ter ocorrido aumento desse parâmetro pelo acréscimo dessa fonte de carboidratos. A frutose, glicose e maltose, na dose de 15 e 30 g L⁻¹, proporcionaram respostas semelhantes, sendo superiores àquelas da sacarose. A altura média das brotações e altura da maior brotação foi maior quando a sacarose foi a fonte de carbono utilizada, nas doses de 30, 45 e 60 g L⁻¹.

Para aumento do número de folhas recomenda-se utilizar meio MS com concentração total de sais adicionado de qualquer tipo de açúcar (sacarose, glicose ou maltose) na concentração de 20 g L⁻¹ e para maior altura de planta recomenda-se meio MS, também com concentração total de sais, adicionado de sacarose ou glicose na concentração de 10 g L⁻¹.

Referências

- [1] TAVARES, E.S. 2001. Estudos preliminares da cultura de tecidos de manjeriço. Monografia de Conclusão de Curso em Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.
- [2] RABELO, M.; SOUZA, E.P.; SOARES, P.M.G.; MIRANDA, A.V.; MATOS, F.J.A. & CRIDDLE, D.N. 2003. Antinociceptive properties of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. (Labiatae). *Brazilian Journal Medical and Biological Research.*, 36: 521-524.
- [3] NAKAMURA, C.V.; UEDA-NAKAMURA, T.; BANDO, E.; MELO, A.F.N.; CORTEZ, D.A.G. & FILHO, B.P.D. 1999. Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 94: 675-678.
- [4] SAHOO, Y.; PATNAIK, S.K. & CHAND, P.K. 1997. *In vitro* propagation of an aromatic medicinal herb *Ocimum basilicum* L. (Sweet basil) by axillary shoot proliferation. *In vitro Cell. Dev. Biol.*, 33: 293-296.
- [5] MANTELL, S.H.; MATTHEWS, J.A. & MCKEE, R.A. 1994. Princípios de biotecnologia em plantas. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética. 333p.
- [6] GRATTAPAGLIA, D. & MACHADO, M.A. 1998. Micropropagação. In: Torres, A.C.; *Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas*. Brasília: Embrapa SPI / Embrapa – CNPH. p. 183-260.
- [7] MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum, Kobenhavn* 15: 473-497.
- [8] ZONTA, E.P. & MACHADO, A.A. 1984. **SANEST - Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores**. Registrado na Secretaria Especial de Informática sob nº 066060 - categoria A. Pelotas, RS: Universidade Federal de Pelotas.
- [9] COUTO, M.; OLIVEIRA, R.P. & FORTES, G.R.L. 2004. Multiplicação *in vitro* dos porta-enxertos de *Prunus* sp. 'Barrier' e 'Cadaman'. *In Rev. Bras. Frutic.*, 26: 5-7.
- [10] VILLA, F.; ARAÚJO, A.J.; PIO, L.A.S. & PASQUAL, M. 2005. Multiplicação *in vitro* da amoreira-preta 'Ébano' em diferentes concentrações de meio MS e BAP. *In Ciênc. agrotec.*, 29: 582-589.
- [11] NICOLOSO, F.T.; ERIG, A.C.; RUSSOWSKI, D. & MARTINS, C.F. 2003. Efeito de doses e fontes de carboidratos no crescimento de plantas de ginseng brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Speng.) Pedersen] cultivadas *in vitro*. *In Ciênc. agrotec.*, 27: 84-90.

Tabela 1. Número médio de folhas de plantas de manjeriçãõ roxo (*Ocimum basilicum* L.) cultivadas em meios com diferentes concentrações de sais de MS, com os açúcares sacarose, glicose e maltose em diversas concentrações.

Concentração dos açúcares		Número médio de folhas por planta
1%		4,40 b
2%		5,25 a
3%		5,34 a
Concentração sais MS		Número médio de folhas por planta
MS/2		4,66 b
MS		5,33 a

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%

Tabela 2. Altura média (cm) de plantas de manjeriçãõ roxo (*Ocimum basilicum* L.) cultivadas em meios com diferentes concentrações de sais de MS, com três tipos de açúcares em diversas concentrações.

Meio MS	Açúcares		
	Sacarose	Maltose	Glicose
MS/2	3,76 b A	3,16 a A	3,88 b A
MS	4,50 a A	2,65 b B	4,53 a A
Concentração açúcar	Açúcares		
	Sacarose	Maltose	Glicose
1%	4,03 a A	2,94 a B	3,94 a A
2%	4,26 a A	3,20 a B	4,32 a A
3%	4,09 a A	2,58 a B	4,34 a A

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas, nas colunas, e maiúsculas, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%