



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CULTIVO *IN VITRO* E *EX VITRO* DE CULTIVARES DE MANJERICÃO  
(*Ocimum basilicum* L.)

RAYSSA CAMARGO DE OLIVEIRA

2020

RAYSSA CAMARGO DE OLIVEIRA

CULTIVO *IN VITRO* E *EX VITRO* DE CULTIVARES DE MANJERICÃO  
(*Ocimum basilicum* L.)

Tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia,  
como parte das exigências do Programa de Pós-  
graduação em Agronomia – Doutorado, área de  
concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de  
“Doutor”.

Orientador

Prof. Dr. Jose Magno Queiroz Luz

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2020

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

O48 2020	<p>Oliveira, Rayssa Camargo de, 1990- CULTIVO IN VITRO E EX VITRO DE CULTIVARES DE MANJERICÃO (Ocimum basilicum L.) [recurso eletrônico] / Rayssa Camargo de Oliveira. - 2020.</p> <p>Orientador: José Magno Queiroz Luz. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós- graduação em Agronomia. Modo de acesso: Internet. Disponível em: <a href="http://doi.org/10.14393/ufu.te.2020.143">http://doi.org/10.14393/ufu.te.2020.143</a>. Inclui bibliografia.</p> <p>1. Agronomia. I. Luz, José Magno Queiroz, 1967-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Agronomia. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 631</p>
-------------	---

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:  
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091  
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
 Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Agronomia  
 Rodovia BR 050, Km 78, Bloco 1CCG, Sala 206 - Bairro Glória, Uberlândia-MG, CEP 38400-902  
 Telefone: (34) 2512-6715/6716 - www.ppga.iciag.ufu.br - posagro@ufu.br



### ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Agronomia				
Defesa de:	Tese de Doutorado, 008/2020 PPGAGRO				
Data:	Vinte e oito de fevereiro de dois mil e vinte	Hora de início:	08:00	Hora de encerramento:	11:40
Matrícula do Discente:	11613AGR019				
Nome do Discente:	Rayssa Camargo de Oliveira				
Título do Trabalho:	Cultivo <i>in vitro</i> e <i>ex vitro</i> de cultivares de manjeriço ( <i>Ocimum basilicum</i> L.)				
Área de concentração:	Fitotecnia				
Linha de pesquisa:	Produção Vegetal em Áreas de Cerrado				

Reuniu-se na sala 212, Bloco 1BCG, Campus Glória, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Agronomia, assim composta: Professores Doutores: Berildo de Melo - UFU; Arie Fitzgerald Blank - UFS; Maria de Fatima Arrigoni Blank - UFS; Roberta Camargos de Oliveira - Pesquisadora; José Magno Queiroz Luz - UFU orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr. José Magno Queiroz Luz apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.

Documento assinado eletronicamente por **José Magno Queiroz Luz, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/02/2020, às 11:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º,



§ 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Arie Fitzgerald Blank, Usuário Externo**, em 28/02/2020, às 11:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria de Fátima Arrigoni Blank, Usuário Externo**, em 28/02/2020, às 11:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Berildo de Melo, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/02/2020, às 11:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Roberta Camargos de Oliveira, Usuário Externo**, em 28/02/2020, às 13:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1850050** e o código CRC **9988A1C3**.

RAYSSA CAMARGO DE OLIVEIRA

CULTIVO *IN VITRO* E *EX VITRO* DE CULTIVARES DE MANJERICÃO  
(*Ocimum basilicum* L.)

Tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia,  
como parte das exigências do Programa de Pós-  
graduação em Agronomia – Doutorado, área de  
concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de  
“Doutor”.

APROVADA em 28/10/2020

Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank	UFS
Prof. Dra. Maria de Fátima Arrigoni-Blank	UFS
Prof. Dr. Berildo de Melo	UFU
Dra. Roberta Camargos de Oliveira	UFU

Prof. Dr. José Magno Queiroz Luz  
ICIAG-UFU  
(Orientador)

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2020

**Aos meus pais, Wilmar e Genilza, base da minha formação e que sempre me incentivaram nessa jornada. À minha irmã Michele, e ao meu namorado Luis pelo carinho e companheirismo.**

**AGRADECIMENTOS**

À Deus que é sempre minha fonte de força e referência.

À minha família que sempre me motivou nos estudos e ofereceu toda a base necessária.

À Universidade Federal de Uberlândia e ao Instituto de Ciências Agrárias pela oportunidade de prosseguir meus estudos.

Ao CNPQ pela concessão da bolsa e incentivo a pesquisa nacional.

Ao professor José Magno Queiroz Luz que aceitou prontamente o meu pedido de orientação e me auxiliou durante todo o período de estudo na universidade.

A Simone Abreu Asmar que com paciência me ensinou as técnicas de cultura de tecido de plantas, agregando com certeza conhecimentos para a vida pessoal e profissional.

Aos professores e pesquisadores Dr. Arie Fitzgerald Blank, Dra. Maria de Fátima Arrigoni-Blank, Dr. Berildo de Melo e Dra. Roberta Camargos de Oliveira por aceitarem o convite de participar da banca de defesa.

Ao corpo docente e aos funcionários do ICIAG que foram primordiais para a minha formação acadêmica e aos colegas da pós graduação pela interação e disposição em ajudar.

A Daniela Nizio da Universidade Federal de Sergipe pela contribuição nas análises.

Aos colegas Herick, Roberta, Mara, Luciana, Rafael e Andreia pelo companheirismo e bons momentos de trabalho em grupo.

A todos que de alguma forma ajudaram ou me deram a oportunidade de aprender mais.

Meu sincero obrigada.



## BIOGRAFIA DA AUTORA

Rayssa Camargo de Oliveira nasceu em Uberlândia-MG no dia 05 de janeiro de 1990.

Em março de 2008 iniciou o curso de Agronomia pela Universidade Federal de Uberlândia – UFU, concluindo-o em dezembro de 2013.

Durante esse período desenvolveu estudo de iniciação científica sobre cultivo de plantas medicinais e sua monografia tratou sobre o cultivo de orégano (*Origanum vulgare*) protegido e em campo e os efeitos na composição do óleo essencial.

Em março de 2014 iniciou o curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em fitotecnia, na Universidade Federal de Uberlândia -UFU para o estudo do cultivo *in vitro* de lavanda (*Lavandula angustifolia*).

No ano de 2016 ingressou no doutorado na Universidade Federal de Uberlândia - UFU dando continuidade ao estudo de plantas aromáticas da família Lamiacea sob cultivo *in vitro* enfocando na espécie do manjeriço (*Ocimum basilicum*).

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	3
LISTA DE FIGURAS .....	1
CAPÍTULO 1 .....	1
Cultivo <i>in vitro</i> de cultivares de manjeriço ( <i>Ocimum basilicum</i> L.) .....	1
RESUMO GERAL .....	1
GENERAL ABSTRACT.....	2
REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
Manjeriço .....	4
Cultivares.....	6
Metabolismo secundário e óleos essenciais.....	7
Cultura de tecidos vegetais .....	8
Meios de cultura .....	9
Tipo de tampas e microambiente.....	11
Fator luz.....	13
Aclimatização .....	14
REFERÊNCIAS .....	15
CAPÍTULO 2 .....	23
Meios de cultura e tipos de tampas em manjeriço <i>in vitro</i> .....	23
RESUMO .....	23
ABSTRACT .....	23
INTRODUÇÃO.....	24
OBJETIVO.....	25
MATERIAL E MÉTODOS.....	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	27
Experimento 1: Meios de cultura e cultivares de manjeriço.....	27

Experimento 2: Uso de diferentes tampas .....	30
CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS .....	34
CAPÍTULO 3 .....	38
Ambientes luminosos em manjeriço <i>in vitro</i> .....	38
RESUMO .....	38
ABSTRACT .....	39
INTRODUÇÃO.....	40
OBJETIVO .....	41
MATERIAL E MÉTODOS.....	41
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	45
CONCLUSÃO.....	50
REFERÊNCIAS .....	50
CAPÍTULO 4 .....	53
Cultivares de manjeriço em vasos e o óleo essencial .....	53
RESUMO .....	53
ABSTRACT .....	53
INTRODUÇÃO.....	54
OBJETIVO .....	55
MATERIAL E MÉTODOS.....	55
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	58
CONCLUSÃO.....	61
REFERÊNCIAS .....	61
ANEXO .....	65
ANEXO FIGURAS .....	68

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Número de folhas e comprimento de parte aérea de plântulas de cultivares de manjeriço ( <i>Ocimum basilicum</i> ) in vitro em diferentes meios de cultura, Uberlândia-MG, 2020. ....	28
Tabela 2: Número de brotos, comprimento radicular (cm), massa seca (g) e porcentagem de hiperhidricidade em cultivares de manjeriço ( <i>Ocimum basilicum</i> ) propagados in vitro em meios LS e MS. Uberlândia-MG, 2020. ....	29
Tabela 3: Número de folhas e teor de clorofila, comprimento de parte aérea e radicular (cm) de cultivares de manjeriço ( <i>Ocimum basilicum</i> ) propagados in vitro com tampas de um, dois e sem filtros. Uberlândia-MG, 2020. ....	32
Tabela 4: Número de brotos, massa seca e porcentagem de contaminação de cultivares de manjeriço ( <i>Ocimum basilicum</i> ) propagados in vitro com tampas de um, dois e sem filtros. Uberlândia-MG, 2020. ....	34
Tabela 5 :Número de folhas (FOL), número de brotos (NBR), comprimento (cm) de parte aérea (AER), massa fresca (MFR), massa seca (MSE), porcentagem de plantas com hiperhidricidade (HIP) e teor de clorofila (SPD) de plântulas de cultivares de manjeriço ( <i>Ocimum basilicum</i> ). in vitro, Uberlândia-MG, 2020. ....	46
Tabela 6: Número de folhas (FOL), número de brotos (NBR), comprimento de parte aérea (AER), massa fresca (MFR), massa seca (MSE), porcentagem de plantas com hiperhidricidade (HIP) e teor de clorofila (SPD) de plântulas de cultivares de manjeriço ( <i>Ocimum basilicum</i> ) .....	47
Tabela 7: Número de folhas (FOL), brotos (NBR) e comprimento de parte aérea (AER) em manjeriço ( <i>Ocimum basilicum</i> ) in vitro sob dois ambientes luminosos. Uberlândia-MG, 2020. ....	49
Tabela 8: Tamanho de raiz (RAD), massa fresca (MFR), massa seca (MSE) e teor de clorofila (SPD), em manjeriço ( <i>Ocimum basilicum</i> ) in vitro sob dois ambientes luminosos. Uberlândia-MG, 2020. ....	49
Tabela 9: Comprimento da parte aérea (AER), diâmetro da copa (COP), massa fresca (MFR), massa seca (MSE), teor de água (TAG), teor de clorofila (SPD) e área foliar (AFO) das quatro cultivares de <i>Ocimum basilicum</i> em vasos, Uberlândia-MG, 2020..	59
Tabela 10: Teor de óleo porcentagens dos componentes majoritários: 1,8 -Cineol, Linalol, Metil chavicol, Metil cinamato, Cadinol de três cultivares de manjeriço ( <i>Ocimum basilicum</i> ) cultivadas em vasos, Uberlândia-MG, 2020. ....	60

## LISTA DE FIGURAS -ANEXOS

Figura 1: Folhas e flores da cultivar Anise.....	68
Figura 2: Flor, inflorescência e folhas da cultivar Cinnamon. ....	68
Figura 3: Folhas e flores da cultivar Grecco a Palla (NOMURA, 2019). ....	69
Figura 4: Flor, inflorescência e folhas da cultivar Italian Large Leaf. ....	69
Figura 5: Flor, inflorescência e folhas da cultivar Limoncino. ....	70
Figura 6: Ápice e folhas da cultivar Maria Bonita. ....	70
Figura 7:Esquema de produção e armazenamento do óleo essencial (GARLET, 2007). 71	
Figura 8: Durabilidade (horas) e eficiência luminosa (lumens) de diferentes tipos de lâmpadas Fluorescente e LED (BOURGET,2008).....	71
Figura 9:Lâmpada LED Growlux indicada para horticultura. (MEAN WELL, 2020)..	71
Figura 10: Taxa fotossintética das plantas segundo o comprimento de onda de luz (SANTOS, 2013).....	72
Figura 11:Tipos de tampas de frascos usados em experimento com cultivares de manjeriçã. ....	72
Figura 12: Conjunto de cinco experimentos testando efeito da luminosidade e cultivares de manjeriçã. Uberlândia-MG, 2020. ....	73
Figura 13: Escala para quantificação de hiperidricidade em plântulas de manjeriçã cultivadas in vitro (TRENTO,2017).....	73
Figura 14: Conjunto de dois experimentos testando efeito da luminosidade e cultivares de manjeriçã. Uberlândia-MG, 2020.....	74
Figura 15:Flores, inflorescência e sementes de manjeriçã. ....	74
Figura 16 Cultivares de manjeriçã em vasos. ....	74
Figura 17: Folhas fresca de manjeriçã Anise para extração de óleo essencial . ....	75
Figura 18: Área foliar de folhas de manjeriçã através do aplicativo Easy leaf area free. ....	75
Figura 19: Formato das folhas das cultivares Maria Bonita, Cinnamon, Italian Large Leaf, Grecco a Palla, Anise e Limoncino respectivamente. ....	76

## CAPÍTULO 1

### **Cultivo *in vitro* e *ex vitro* de cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)**

#### **RESUMO GERAL**

RAYSSA CAMARGO DE OLIVEIRA. **Cultivo *in vitro* e *ex vitro* de cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum*)** 2020. 90p. Tese (Doutorado em Agronomia/ Fitotecnia) Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.<sup>1</sup>

O manjeriço (*Ocimum basilicum*) é uma espécie aromática e medicinal utilizada na indústria farmacêutica, alimentícia, de cosméticos e de limpeza o que resulta em uma demanda por matéria prima em quantidade e padrões de qualidade mínimos. As espécies produtoras de óleos essenciais podem apresentar alta variabilidade entre indivíduos resultando em uma desuniformidade no desenvolvimento e, portanto, na quantidade e composição do óleo essencial. Neste contexto, objetivou-se o cultivo *in vitro* através da micropropagação para minimizar pontos críticos comuns no cultivo de plantas com propriedades medicinais e ou produtoras de óleos essenciais. Dessa forma, foram realizados cinco experimentos no intuito de estudar o desenvolvimento *in vitro* de algumas cultivares dessa espécie. No primeiro experimento avaliou-se o uso dos meios MS e LS sob cultivares de manjeriço. No segundo, avaliou-se a influência do uso de tampas dos frascos com e sem filtros. No terceiro avaliou-se o efeito de lâmpadas fluorescentes brancas e LEDs amarelo, azul, verde e vermelho. No quarto experimento avaliou-se o efeito de lâmpadas LED azul e LED Growlux. No último experimento avaliou-se o cultivo em vasos e a produção de óleo essencial. O manjeriço *in vitro* cultivado em meio de cultura MS produziu plantas com maior matéria seca e menor porcentagem de hiperhidricidade. A tampa sem filtro resultou em menor contaminação no cultivo *in vitro* de manjeriço. As plantas *in vitro* produziram maior quantidade de folhas e massa fresca e seca quando cultivadas sob lâmpadas LEDs Growlux. As cultivares Limoncino e Anise produziram plantas mais altas e com maior diâmetro de copa quando cultivado em vasos enquanto que Cinnamon cultivado na mesma condição produziu maior quantidade de massa seca, teor de água e clorofila. A cultivar Anise

apresentou como composto majoritário Metil chavicol (66,98%), Cinnamon Metil cinamato e Linalol (26,95% e 23,44%) e Italian Large Leaf o composto Linalol (41,91%).

**Palavras chave:** *Ocimum basilicum*, Cultura de tecidos. Meio de cultura. Lâmpadas. Óleo essencial.

---

<sup>1</sup>Orientador: José Magno Queiroz Luz- UFU.

### ***In vitro and ex vitro culture of manjeriçã (Ocimum basilicum L.) cultivars***

#### **GENERAL ABSTRACT**

OLIVEIRA, RAYSSA CAMARGO. ***In vitro and ex vitro culture of manjeriçã (Ocimum basilicum L.) cultivars*** 2020. 90p. Tesis (Doctor's Program Agronomy/crop Science) Federal University of Uberlândia, Uberlândia, MG<sup>1</sup>

Basil is an aromatic and medicinal species used in the pharmaceutical, food, cosmetics and cleaning industries, which results in a demand for raw materials in minimal quantities and standards. The species that produce essential oils can present high variability between individuals, resulting in an uneven development and, therefore, in the quantity and composition of the essential oil. In this context, *in vitro* cultivation through micropropagation can minimize common critical points in the cultivation of plants with medicinal and or essential oil-producing properties. Thus, five experiments were carried out in order to study the *in vitro* development of some cultivars of this species. In the first experiment, the use of MS and LS media was evaluated under basil cultivars. In the second, the influence of the use of bottle caps with and without filters was evaluated. In the third, the effect of white fluorescent lamps and yellow, blue, green and red LEDs was evaluated. In the fourth experiment, the effect of blue LED and Growlux LED lamps was evaluated. and finally, in the fifth experiment, the cultivation in pots and the production of essential oil were evaluated. Biometric characteristics such as number of leaves, lengths of aerial and root parts, fresh and dry mass, percentage of abnormal seedlings,

vittrification, crown diameter, water content, leaf area and Teor de clorofila were evaluated. Basil *in vitro* reacted better to the use of MS culture medium. The cap without filter resulted in better biometric characteristics and less contamination in the *in vitro* cultivation of basil. The plants in general produced more leaves and fresh, dry mass when grown under Growlux LED lamps. The cultivars Limoncino and Anise produced plants that were comparatively taller and had a larger canopy diameter when grown in pots, while Cinnamon produced a greater amount of dry matter, water content and chlorophyll. The cultivar Anise presented as the major compound Methyl chavicol (66.98%), Cinnamon Methyl cinnamate and Linalol (26.95% and 23.44%) and Italian Large Leaf the compound Linalol (41.91%).

**Keywords:** Tissue culture. Culture medium. Light. Essential oil<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup>Major: José Magno Queiroz Luz – UFU.

---

<sup>1</sup>O estudo ora apresentado foi construído seguindo as orientações na Norma para redação final de dissertações e teses (PPGA, 20--). A mesma sugere a utilização de um modelo e estrutura de acordo com a finalidade do estudo que no caso deste estudo foi a de artigo científico.



## REFERENCIAL TEÓRICO

As plantas apresentam uma ampla variedade de diversidade química que pode apoiar as indústrias de alimentos, medicamentos, cosméticos, perfumaria e biomateriais. A utilização e popularidade dos medicamentos derivados de plantas tem aumentados nos últimos anos (NIAZIAN, 2019). Apesar das várias aplicações e da crescente demanda, as plantas medicinais e/ou aromáticas são comparativamente pouco domesticadas. Quando os humanos deixaram a caça nômade e coleta de alimentos e começaram a cultivar plantas, seu foco estava principalmente em espécies fornecedoras de alimentos, como trigo, soja, milho, arroz, batata, girassol e as plantas medicinais estiveram em segundo plano por muitos anos (ROSADO et al., 2011).

A domesticação é um processo evolutivo dinâmico que cria novas e valiosas formas de plantas de espécies selvagens através de modificação genética. Assim, a cultura de tecidos pode contribuir para programas de melhoramento genético com a obtenção massal de clones e constitui-se como um importante método por viabilizar a formação de grandes populações de alto genótipo e, portanto, de subprodutos de alta qualidade como os óleos essenciais extraídos de plantas aromáticas (KOVACH et al., 2007).

Segundo Silva (2019) o Brasil não está totalmente inserido na cadeia produtiva de plantas aromáticas e de produtos como os óleos essenciais, o que torna emergente verificar o comportamento dessas plantas para demonstrar que também é possível obter produtividades de espécies aromáticas mesmo em solos tropicais e intemperizados utilizando tecnologia e inovação.

Segundo Hasenclever et al., (2017), a adequação do quadro atual da regulação para a pesquisa e a produção de plantas aromáticas e fitoterápicos em toda a cadeia produtiva brasileira é capaz de diminuir a inundação do mercado com a importação desses produtos e suas matérias primas.

Dentre as espécies de plantas medicinais e/ou aromáticas cultivadas no Brasil está o manjeriço (*Ocimum basilicum*) que será o foco deste trabalho.

### **Manjeriço**

O manjeriço (*Ocimum basilicum*) é uma importante espécie medicinal, aromática e ornamental da família da Lamiaceae, utilizada principalmente na extração de óleo essencial (ROSADO et al., 2011) e consumo *in natura*. Seu óleo essencial apresenta

diferentes composições segundo a cultivar, pode ser obtido da destilação das flores, ramos e folhas e é importante para as indústrias cosmética, farmacêutica e de perfumaria (ALCANTARA et al., 2018).

Quanto ao uso na medicina popular utilizam-se, principalmente as inflorescências e menos frequentemente as folhas, que são consideradas antifatulenta, antiséptica, antitússica, carminativa, cicatrizante, diaforética, espasmolítica, estimulante, expectorante e sedativa. Além disso, apresenta benefícios no tratamento de doenças gastrointestinais, cardiovasculares, câncer e diabetes (NADEEM et al., 2019).

Outras propriedades apresentadas são antioxidante, antifúngica, inseticida, nematocida e antimicrobiana que favorecem o uso na agricultura como pesticida (SILVA et al., 2017).

As flores de manjeriço são de cor branca à roxa e dispostas em um pico terminal, com 4 estames epipétalos, 5 pétalas sendo uma labiada conforme a família botânica, folhas opostas e frutos secos do tipo esquizocárpico. As cultivares de manjeriço podem ser distinguidas entre si com base em sua altura, formato, tamanho de folhas além da composição dos óleos essenciais.

Multiplica-se tanto por sementes como por estacas sendo as sementes ortodoxas podendo ser semeadas diretamente na área de cultivo ou as mudas podem ser produzidas e transplantadas para o campo. As sementes de manjeriço são relativamente pequenas e por isso a obtenção de mudas permite a redução das perdas quando comparada com a semeadura direta no campo o que garante o estande final (Anexo – Figura 15). Algumas cultivares são semeadas direta no campo principalmente por pequenos produtores rurais para a comercialização da planta como condimento (MAGGIONNI et al., 2014).

A espécie *Ocimum basilicum* é originária da região Sudeste da Ásia e África Central e é cultivada em extensão principalmente na Indonésia, Egito, Marrocos, França, Índia, Grécia, EUA e Hungria (LORENZI e MATOS, 2008).

O nome “Basil” é derivado da palavra grega basileus, que significa “real ou semelhante a um rei” por causa da fragrância real desta planta. A Plant List (2010) reconheceu 66 de um total de 327 espécies de ervas e arbustos registrados no gênero *Ocimum*. Existem muitas variedades de manjeriço, com novas variedades sendo adicionadas a cada ano. A taxonomia do manjeriço tem sido muito complicada pela hibridização interespecífica e poliploidia, bem como diversidade morfológica e variação quimiotípica nas espécies de manjeriço (LI e CHANG, 2016).

## **Cultivares**

A espécie do manjeriço apresenta cultivares e dentre elas estão a Anise, Cinnamon, Grecco a Palla, Italian Large Leaf, Limoncino, e Maria Bonita. A Anise é uma cultivar de flores roxas, folhas verde escuras, bordas pouco serreadas (Anexos -Figura 1). Pode ser cultivada à pleno sol, solo bem drenado e apresenta necessidade de água moderada a alta. O auge da produção de folhas ocorre aos 60-90 dias após a germinação enquanto que floração ocorre entre 120 a 140 dias (AMKHASEEDS, 2019). O composto majoritário na composição do óleo essencial da cultivar Anise é o metil chavicol (PINTO et al., 2019).

A cultivar Cinnamon tem as flores roxas e as folhas verde escuras, com a bordas serreadas, e seu óleo essencial é rico em linalol e (E)-metil-cinamato que produz um odor semelhante à canela (*Cinnamomum zeylanicum*) e por isso pode ser usado em perfumarias "finas", cosméticos e outros produtos de higiene pessoal, além de produtos não cosméticos (Anexos - Figura 2).

A cultivar Grecco a Palla é uma planta com folhagem densa e vigorosa, de folhas pequenas e numerosas, copa arredondada, indicada para cultivo em vasos e apresenta potencial ornamental. É tolerante ao calor, ciclo de 60 dias no verão e 90 dias no inverno, sendo a Isla Sementes Ltda a empresa mantenedora (Anexos - Figura 3). O óleo essencial de cultivar Grecco a Palla apresenta como compostos majoritários os álcoois linalol e eugenol (PINTO et al.,2019).

A cultivar Italian Large Leaf apresenta plantas de porte médio a alto (50cm), prolífica, com folhas grandes, côncavas e ovais, de bordas não serreadas, de coloração verde escura, flores brancas muito aromáticas, ciclo de 60 dias no verão e 90 dias no inverno sendo a Isla Sementes Ltda a empresa mantenedora (Anexos - Figura 4) (ISLA, 2019). Os três componentes majoritário do óleo essencial dessa cultivar são linalol, eugenol e 1,8 cineol.

A cultivar de manjeriço Limoncino apresenta plantas com folhas pequenas, aroma de limão, ideal para canteiros e venda em ramos (Anexos - Figura 5). As plantas são de tamanho uniforme (50cm), com copas densas, muito vigorosa, pouco resistente ao pendoamento, ciclo de 60 dias no verão e 90 dias no inverno e a empresa mantenedora é Isla Sementes Ltda (ISLA,2019).

A cultivar Limoncino apresenta como composto majoritários o geral e o geranial (PINTO et al., 2019). Entretanto, segundo Paulus e colaboradores (2016) a cultivar de manjeriço Limoncino (*Ocimum basilicum* var. *citriodorum*) pode ser um híbrido entre manjeriço verdadeiro (*Ocimum basilicum*) e manjeriço branco (*Ocimum americanum*); apresentando forte aroma de limão, conferido pelo citral, constituinte majoritário de seu óleo essencial.

A cultivar Maria Bonita é proveniente do acesso PI 197442, oriundo do Banco de Germoplasma North Central Regional PI Station, Iowa State University, EUA e é a primeira cultivar registrada e melhorada de manjeriço no Brasil. Apresenta forma de copa arredondada, com pétala rósea e sépala roxa (BLANK et al., 2007). Os pecíolos foliares são comparativamente maiores do que as demais cultivares desse trabalho e é uma cultivar geneticamente melhorada com alto teor de linalol e bem enfolhada (CARDOSO et al., 2016). O mantenedor é Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank e o número de registro da mesma é 22019 (Anexos - Figura 6).

Alves e colaboradores (2007) testaram alguns acessos de manjeriço e verificaram diferentes atividades citotóxica e de letalidade o que reforça a ideia de que acessos e cultivares podem ser diferentes entre si.

### **Metabolismo secundário e óleos essenciais**

Conhecer o que é produzido pelas plantas é o que as tornam possuidoras de efeito medicinal além disso, conforme o tipo de substância que as mesmas produzem, as condições do local e o modo de condução da cultura podem influenciar na característica final do produto (RIBEIRO e DINIZ, 2008).

As plantas superiores possuem dois tipos de metabolismo, o primário e o secundário. No primário são produzidas substâncias estruturais como lipídeos, proteínas, carboidratos, aminoácidos e ácidos nucleicos, que estão relacionados com o crescimento e desenvolvimento da planta (SHIH e MORGAN, 2020).

No metabolismo secundário são produzidas substâncias que possuem atividades de proteção contra pragas, doenças e atração de polinizadores, entre outras. Alguns desses compostos vegetais chegam a ser usados como marcadores taxonômicos na classificação botânica de plantas. Essas substâncias possuem um grande potencial econômico, especialmente na indústria alimentícia, farmacêutica e setores de comércio como é o caso do óleo essencial de manjeriço (PIMENTEL et al., 2006).

Os óleos essenciais são produtos aromáticos voláteis que podem ser encontrados concentrados em diversas partes da planta como: nas folhas, flores, em células secretoras (Anexo-figura 7), tricomas e outras, e podem ser empregados nas indústrias de perfumaria, limpeza, cosmética, alimentícia e farmacêutica (TSURO et al., 2000).

Os óleos essenciais de manjeriço podem ser classificados em quatro quimiotipos, segundo os principais componentes: linalol-metil chavicol, metil chavicol, metil cinamato e eugenol (PINTO et al., 2019).

O óleo essencial de manjeriço apresenta atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas e atividade moderada contra bactérias Gram-negativas. Cerca de trinta e seis constituintes químicos são identificados na composição do óleo essencial de manjeriço e o linalol (69,87%) é o principal constituinte (AL ABBASY et al., 2015).

A natureza e a quantidade desses metabólitos produzidos durante o desenvolvimento do vegetal podem ser afetadas por diversos fatores como radiação, temperatura, precipitação, ventos fortes, solo, época, estação e horário de coleta, entre outros, que são fatores passíveis de serem controlados no caso do cultivo *in vitro* (LIMA et al., 2003).

Dessa forma é necessário testar maneiras de se obter uma produtividade que supra a demanda do mercado nacional de produtos com concentrações, quantidade e qualidade desejáveis de óleos essenciais. Para isso, uma alternativa seria estudar os efeitos diferentes formas de cultivo como *in vitro* e em vaso.

### **Cultura de tecidos vegetais**

O processo de cultura de tecidos vegetais compreende um conjunto de técnicas nas quais um explante (célula, tecido ou órgão) é isolado sob condições assépticas, em meio nutritivo artificial. Este processo baseia-se no princípio da totipotencialidade das células, ou seja, qualquer célula de organismo vegetal apresenta todas as informações genéticas necessárias à regeneração de uma planta completa (JUNGHANS e SOUZA 2013; GALLO e CROCOMO, 2011).

Assim, diversas partes da planta como gemas, meristemas apicais, embriões, segmentos de caule, extremidade de raízes, anteras, protoplasto e outras, podem ser cultivadas *in vitro* em meio nutritivo apropriado em ambiente asséptico (THORPE, 2012).

A micropropagação é uma técnica de cultura de tecidos que engloba diferentes etapas que vão desde o estabelecimento da cultura *in vitro* até seu enraizamento,

culminando com a aclimatização da planta micropropagada (BASTOS et al., 2007). A técnica apresenta bons resultados e tem sido utilizada para obtenção de plantas saudáveis e em larga escala (THORPE, 2012).

O controle quase absoluto do crescimento e da morfogênese a partir de explantes *in vitro* é uma das principais características da cultura de tecidos vegetais, sendo que esses fenômenos ocorrem mantendo-se os explantes em um meio de cultura (CID, 2014). Dessa forma, surge a necessidade de se estudar e conhecer detalhadamente quais são os componentes e propriedades dos meios de cultura e ambiente com um todo para cada espécie envolvendo fatores como tipo de frascos, luz e processo de aclimatização.

### **Meios de cultura**

Um dos fatores a ser definido para se fazer micropropagação é o meio de cultura a ser utilizado. No desenvolvimento dos meios nutritivos para a cultura de tecidos de plantas, houve desde o início uma busca por meios definidos, de composição conhecida e controlada (CID, 2014). Porém, algumas modificações além de proporcionarem melhores condições de desenvolvimento das plantas, têm ainda grande aplicabilidade na melhoria da conservação e multiplicação *in vitro*. Na maioria das vezes essas alterações se baseiam na redução da concentração de seus componentes originais, utilização de agentes alternativos, alteração do potencial hidrogeniônico (pH) ou ainda adição de reguladores de crescimento (SOUZA et al., 2011).

Os meios de cultura, segundo CID (2014), além de fornecer as substâncias nutricionais essenciais para o crescimento, também determinam o padrão de desenvolvimento *in vitro*. Alguns desses meios foram especificamente desenvolvidos para fornecer os requisitos particulares à espécie trabalhada, como o meio básico de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), desenvolvido inicialmente para tecido medular de *Nicotiana tabacum* e que atualmente é utilizado para um grande número de espécies. Além do MS, alguns anos após foi desenvolvido o meio LS (LINSMAIER e SKOOG, 1965) que é muito similar ao primeiro, mas contém algumas alterações (Quadro 1).

Sais	LS mg L <sup>-1</sup>	MS mg L <sup>-1</sup>
CaCl <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O	440	440
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	170
KNO <sub>2</sub>	1900	1900
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	370	370
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	1650
CoCl <sub>2</sub> . 6 H <sub>2</sub> O	0,025	0,025
CuSO <sub>4</sub> . 5 H <sub>2</sub> O	0,025	0,025
H <sub>2</sub> BO <sub>3</sub>	6,2	6,2
KI	0,83	0,83
MnSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	22,3	22,3
NaI <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0,25	0,25
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	8,6	8,6
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	27,8	27,8
NaI <sub>2</sub> EDTA 2 H <sub>2</sub> O	37,2	37,2
<b>Ácido nicotínico</b>		<b>0,5</b>
<b>Glicina</b>		<b>2,0</b>
Mio-inositol	100	100
<b>Piridoxina Hcl</b>		<b>0,5</b>
Tiamina Hcl	0,4	0,1

Quadro 1: Comparação da composição dos meios de cultura LS e MS.

No Quadro 1 é possível verificar que o meio LS difere do meio MS por não conter as vitaminas ácido nicotínico e piridoxina e o aminoácido glicina além de conter maior quantidade da vitamina tiamina.

A necessidade de vitaminas é variável para cada espécie e há relatos de cultura que dispensam a adição de vitaminas no meio nutritivo. A tiamina, na forma de pirifosfato

de tiamina é um co-fator essencial no metabolismo do carboidrato e é diretamente envolvida na biossíntese de alguns aminoácidos. A tiamina tem sido adicionada aos meios de cultura mais frequentemente porque as plantas a requerem para crescer (CID et al., 2014).

A glicina é um aminoácido precursor da síntese de clorofila e também age nos mecanismos de defesa dos vegetais. Os aminoácidos de maneira geral, dentre outras funções, têm interação com a nutrição de plantas, aumentando a eficiência na absorção, transporte e assimilação dos nutrientes.

A quelatão de cátions com aminoácidos gera moléculas sem cargas, reduzindo o efeito das forças de atração e repulsão da cutícula da folha, elevando a velocidade de absorção dos nutrientes. Além disso, esses quelatos formados por cátions mais aminoácidos aumentam a capacidade de circulação de nutrientes pelas membranas, culminando em um importante componente de nutrição das plantas, a translocação de nutrientes pouco móveis pelos vasos do floema (GIOACCHINO et al., 2019).

### **Tipo de tampas e microambiente**

O tipo de vedação utilizado no frasco de cultura também é um fator que determina a qualidade do microambiente dentro dos frascos por influenciar nas trocas gasosas com o ambiente externo. Tampas que vedam totalmente o frasco facilitam a prevenção de contaminações, porém não permitem trocas gasosas adequadas prejudicando o desenvolvimento da planta, principalmente devido a saturação com gases que induzem a senescência e/ou hiperhidricidade podendo tornar as plantas menos rústicas e mais sensíveis a fase de aclimatização (WOJTANIA e WEGRZYNOWICZ-LESIK., 2012).

A forma de vedação empregada interfere nas trocas gasosas entre o microambiente dentro do frasco e o ar atmosférico, o que pode ocasionar o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> e etileno dentro dos frascos se for utilizada vedação hermética, resultando em teores insuficientes de clorofila para realizar a fotossíntese e garantir sua manutenção e crescimento (FERNANDES et al., 2013).

As vedações mais utilizadas em laboratórios são tampas plásticas de pressão ou de rosca de polipropileno, podendo ser autoclavadas, pois resistem a altas temperaturas sem que ocorra deformação. Recentemente, membranas porosas permeáveis a gases têm sido usadas, pois permitem a eficiência das trocas gasosas, diminuindo o acúmulo de etileno, culminando na melhoria do processo de aclimatização (MARQUES et al., 2013).



Contudo, pelo seu elevado custo também empregam-se vedações alternativas, tais como: papel alumínio, gaze com algodão, metal e película de PVC.

A planta bem formada *in vitro* apresenta melhores condições de superar dificuldades no processo de aclimatização, pois a aclimatização representa para algumas espécies um fator limitante na produção, em decorrência dos altos índices de mortalidade, baixa taxa de crescimento e desuniformidade das mudas micropropagadas.

O déficit hídrico resultante da elevada transpiração das plantas durante a transferência para a condição *ex vitro*, é uma das principais causas da mortalidade das mudas na etapa de aclimatização (BANDINELLI et al., 2013).

Essa baixa regulação da perda de água ocorre porque, em geral, as plantas *in vitro* possuem estômatos pouco funcionais, além de reduzido espessamento da cutícula e da parede das células epidérmicas, pequeno desenvolvimento do mesófilo foliar, com muitos espaços intercelulares e ausência ou reduzido número de tricomas na epiderme (HAZARIKA, 2006; KHAN et al., 2003).

Além disso, a regulação hídrica, na transição do metabolismo heterotrófico para autotrófico desempenha papel fundamental na etapa de aclimatização. A atividade fotossintética das plantas *in vitro* é limitada principalmente pela reduzida intensidade luminosa, concentração de CO<sub>2</sub> no recipiente de cultivo e presença de sacarose no meio de cultura que é, em geral, a única ou principal fonte de carbono para o crescimento e desenvolvimento das plantas *in vitro* (LIMA-BRITO et al., 2016).

Assim, a transferência do ambiente *in vitro* para o ambiente *ex vitro* requer alterações nas plantas micropropagadas, a fim de reduzir o estresse causado pelas diferenças entre as condições ambientais (SILVEIRA et al., 2013). Em geral, essas alterações são induzidas em uma fase denominada rustificação, que consiste na exposição gradual das plantas às condições externas ao ambiente de cultivo, e pode ocorrer *in vitro* e/ou durante o período de aclimatização (LIMA-BRITO et al., 2016). Entre os procedimentos que induzem tais alterações *in vitro*, destacam-se o aumento na intensidade luminosa, a redução ou eliminação da sacarose do meio de cultura e aeração das culturas através de tampas com filtros.

As condições nutricionais e climáticas são um fator determinante no cultivo vegetal, pois o desempenho agrônômico depende da interação entre genótipo e ambiente, podendo muitas vezes afirmar que a condição climática é mais limitante do que o nutriente nitrogênio para o desenvolvimento de um vegetal (FERREIRA et al., 2016).

## **Fator luz**

Um outro fator relevante para a manutenção dos vegetais é a luz fotossintética e a eficiência luminosa é um parâmetro que indica o quão eficiente uma fonte luminosa converte em luz fotossintética a energia que recebe, sendo avaliada pela correlação do seu consumo de energia dado pela potência em Watts (W) e o fluxo luminoso total emitido, dado em lúmens (lm).

As lâmpadas utilizadas em cultivos vegetais devem ser avaliadas também quanto a temperatura da cor que é medida em unidades de Kelvin (K). Considera-se a temperatura inferior a 3000 K, a luz neutra entre 3000 e 5000 K e a luz superior a 5000 K é a temperatura da cor correspondente à luz solar e a 'luz de dia' de temperatura 5500 K ou superior.

Lâmpadas fluorescentes brancas são particularmente ricas em comprimentos de ondas azuis, mas podem ser enriquecidas com comprimentos de onda vermelhos frequentemente usadas nas câmaras de crescimento de planta. Essas lâmpadas apresentam espectro por duas linhas individuais da emissão de mercúrio sobreposta em um espectro contínuo do fósforo (SALISBURY e ROSS, 2012).

Outro tipo de lâmpadas que tem sido usado em salas de crescimento são as LEDs (Light Emitting Diode) em virtude dos seus benefícios, incluindo espectro monocromático, menos calor e conseqüentemente há menor gasto para controle de temperatura da sala de crescimento com ar condicionado. Além disso, a menor produção de calor permite que as lâmpadas sejam posicionadas mais próximo as plantas permitindo uma melhor qualidade de iluminação e otimiza o uso do espaço (WATANABE et al., 2011).

A lâmpada LED é um componente eletrônico que não utiliza reator e que gera luz com baixo consumo, pois necessitam de uma menor quantidade de potência para gerar o mesmo fluxo luminoso de uma lâmpada fluorescente (lúmens). Quando mantidos em temperaturas favoráveis, os LEDs têm uma vida útil operacional de 50.000 horas ou mais, que é pelo menos duas vezes mais que as lâmpadas fluorescentes ou de sódio de alta pressão convencionais (Figura 8 Anexos). Além disso as lâmpadas LEDs podem apresentar até o dobro de eficiência luminosa do que as lâmpadas fluorescentes (BOURGET, 2008).

Um tipo específico de LED que é recomendado para cultivo de plantas são as lâmpadas do tipo Growlux que são fabricadas para uso na agricultura além de aquários. Ela é composta por feixes de luz individualizados com comprimentos de onda na faixa do vermelho e azul. (Figura 9 - Anexos).

A respeito dos efeitos da composição espectral sobre a morfogênese vegetal, os resultados têm sido variados segundo as espécies e órgãos. A luz da região azul e vermelha estimulam diferentes taxas fotossintéticas e organogêneses de raiz/broto nas plantas (Figura 10 -Anexos).

O fitocromo é o principal fotorreceptor das plantas vasculares e ele absorve mais fortemente as luzes vermelha e vermelha distante, e em menor quantidade absorve a luz azul. Quimicamente, o fitocromo é um homodímero de dois polipeptídeos idênticos, cada um com um peso molecular de aproximadamente 120 KDa. Cada polipeptídeo tem um grupo prostético chamado de cromóforo que é ligado por um átomo de enxofre a um resíduo de cisteína do polipeptídeo. É o cromóforo, e não a proteína, que absorve a luz que causa a resposta pelo fitocromo (SALISBURY e ROSS, 2012).

A presença dos fitocromos e outros fotorreceptores na planta controlam os processos fotomorfogênicos, iniciando com a germinação da semente e o desenvolvimento das mudas o que culmina na formação de novas flores e sementes (SALISBURY e ROSS, 2012). Os fitocromos apresentam um limite de recepção de luz determinando então a existência de um ponto de saturação luminoso que é quando a velocidade do processo é máxima e a partir daí se torna constante. Neste ponto de compensação luminoso é o momento em que a velocidade da fotossíntese e da respiração são iguais, portanto, do ponto de vista produtivo é importante conhecer esse ponto a fim de evitar desperdício energético.

A qualidade de luz, a especificidade de comprimento de onda e o tempo de exposição determinam a biossíntese de metabólitos fitoquímicos em numerosas espécies de plantas que produzem alcaloides, terpenóides, glicosídeos, esteroides e óleo essencial no caso de manjeriço a ser estudado nesse trabalho (ANJUM e ABBASI, 2016).

## **Aclimatização**

As plantas produzidas por micropropagação *in vitro* passam em último estágio pelo processo da aclimatização que é uma etapa crítica para as plantas micropropagadas

já que as mesmas apresentam um aparelho fotossintéticos menos ativo em virtude da presença de um açúcar como fonte energética, pela fonte luminosa artificial e pela composição gasosa restrita dentro do frasco. Essas características contribuem para formação de uma cutícula foliar pouco cutinizada, retenção de líquido formando plantas com hiperhidricidade ou ainda sujeitas ao fenômeno recorrente de oxidação.

O manjeriço apresenta problemas de hiperhidricidade quando cultivado *in vitro* o que torna difícil a adaptação ao ambiente externo. Neste estado a planta apresenta distúrbios morfológicos e fisiológicos decorrentes do elevado teor de água no interior das células e tecidos, podendo atingir 60% dos brotos micropropagados (PARK et al., 2004).

Plantas hiperhídricas caracterizam-se morfológicamente por apresentarem aspectos, translúcido, caules largos e engrossados em diâmetro e com entrenós mais curtos que os de plantas normais, órgãos menos verdes e facilmente quebráveis, menor formação de raízes ou o não enraizamento, hipertrofia do mesófilo e do córtex do caule, hipertrofia das células, maiores espaços intercelulares, falta de cera cuticular, folhas grossas, frágeis, alongadas e/ou enrugadas e com alterações na densidade e distribuição dos estômatos, nas células-guarda, no número e espessura das camadas da epiderme e do tecido parenquimático e nas estruturas de defesa mecânica e química, além de desorganização dos tilacóides e baixo número de granas, menor número de cloroplastos e menor quantidade de clorofila (PALMA et al., 2011).

Dessa forma, se torna importante o estudo de maneiras que favoreçam a transferência dessas plantas do ambiente *in vitro* para *ex vitro* onde é possível produzir uma maior quantidade de biomassa e conseqüentemente extrair um maior volume de óleo essencial.

## REFERÊNCIAS

AL ABBASY, D. W.; PATHARE, N.; AL SABAHI, J. N.; KHAN, S. A. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil isolated from Omani basil (*Ocimum basilicum* L.). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, Singapore, v. 5, p. 645-649, 2015. DOI: [http://doi.org/10.1016/S2222-1808\(15\)60905-7](http://doi.org/10.1016/S2222-1808(15)60905-7).

ALCANTARA, F. D. O.; SILVA, T. I.; MACIEL, T. C. M.; SILVA F. B. Teor e fitoquímica de óleo essencial de manjeriço em diferentes horários de colheita. **Revista**

**da Agricultura Neotropical**. Cassilândia, v. 5, n. 4, p. 1-6, 2018. DOI:

<https://doi.org/10.32404/rean.v5i4.1682>

AMKHASEEDS, 2019. Disponível em: <https://www.amkhaseed.com/products/basil-anise-ocimum-basilicum>. Acesso em: 20 dez. 2019.

ANJUM, S.; ABBASI, B. H. Síntese biomimética de nanopartículas de prata antimicrobiana utilizando plântulas propagadas *in vitro* de uma espécie ameaçada medicinalmente importante: *Phlomis bracteosa*, **International Journal of Nanomedicine**, Auckland, v. 11, p. 1663, 2016. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S105532>.

BANDINELLI, M. G.; BANDINELLI, M. G.; BISOGNIN, D. A.; GNOCATO, F. S.; MAMBRIN, R. B.; SAUSEN, D.; NICOLOSO, F. T. MS salt and sucrose concentrations in the *in vitro* multiplication and acclimatization of potato. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 2, n. 31, p. 242-247, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362013000200011>.

BASTOS, L. P.; MOREIRA, M. J. S.; COSTA, M. A. P. C.; ROCHA, M. C.; HANSEN, D. S.; SILVA, S. A.; DANTAS, A. C. V. L.; SOUSA, C. S. Cultivo *in vitro* de mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, supl.2, p. 1122-1124, 2007.

BLANK, A. F.; SOUZA, E. M.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; PAULA, J. W. A.; ALVES, P. B. Maria Bonita: cultivar de manjeriço tipo linalol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 12, p. 1811-1813, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2007001200020>.

BOURGET, C. M. An Introduction to Light-emitting Diodes. **HortScience**, Alexandria, v. 43, p. 1944-1946, 2008. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.43.7.1944>.

LIMA-BRITO, A.; ALBUQUERQUE, M. M. S.; RESENDE, S. V.; CARNEIRO, C. E.; SANTANA, J. R. F. Rustificação *in vitro* em diferentes ambientes e aclimatização

de microplantas de *Comanthera mucugensis* Giul. subsp. *Mucugensis*. **Revista Ciência Agrônômica**, Jaboticabal, v. 47, n. 1, p. 152-161, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/1806-6690.20160018>.

CARDOSO, N. N. R.; ALVIANO, C. S.; BLANK, A. F.; ROMANOS, M. T. V.; FONSECA, B. B.; ROSENTAL, S.; RODRIGUES, I. A.; and ALVIANO, D. S. Synergism Effect of the Essential Oil from *Ocimum basilicum* var. Maria Bonita and Its Major Components with Fluconazole and Its Influence on Ergosterol Biosynthesis. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, Oxford, n. 7-8, p. 1-12, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/5647182>.

CID, L. P. B. **Cultivo *in vitro* de plantas**. 3. ed. Brasília DF: Embrapa, 2014. 325p.

FERNANDES, A. R **Crescimento de cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) cultivadas em vasos**. 2014, 49f, Tese. Doutorado em Fitotecnia. Universidade Federal de Viçosa. 2014.

FERREIRA, S. D.; BULEGON, L. G.; YASSUE, R. M.; ECHER, M. M. Efeito da adubação nitrogenada e da sazonalidade na produtividade de *Ocimum basilicum* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 18, n. 1, p. 67-73, 2016. DOI: [http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/15\\_035](http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/15_035).

GALLO, L. A.; CROCOMO, O. J. A cultura de tecidos em fitopatologia. *In*: FILHO AB; KIMATI H; AMORIM L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 4. ed., v.1, São Paulo: Ceres, 2011.

GIOACCHINO, M. D; RICCI, M. A.; IMBERTI, S.; HOLZMANN, N.; BRUNI, F. Hydration and Aggregation of a Simple Amino Acid: The Case of Glycine. **Journal of Molecular Liquids**, Amsterdam, v. 301, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.112407>.

HAZARIKA, B. N. Morpho-physiological disorders *in vitro* culture of plants. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 108, n. 2, p. 105-120, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.01.038>.

HASENCLEVER, L.; PARANHOS, J.; COSTA, C. R.; CUNHA, G., VIEIRA, D. A indústria de fitoterápicos brasileira: desafios e oportunidades. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 8, p. 2559-2569, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-81232017228.29422016>.

ISLA, 2019. Disponível em: <://isla.com.br/produto/manjericao-grecco-a-palla/479>. Acesso em: 20 dez. 2019.

JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. Brasília: Embrapa. 2013. 407p.

KHAN, P. S. S. V.; KOZAI, T.; NGUYEN, Q. T; KUBOTA, C.; DHAWAN, V. Growth and water relations of *Paulownia fortunei* under photomixotrophic and photoautotrophic conditions. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 46, n. 2, p. 161-166, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:102284472>.

KOVACH, M. J., SWEENEY, M. T., MCCOUCH S. R. New insights into the history of rice domestication. **Trends Genet**, Amsterdam, v. 23, p.578–587, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tig.2007.08.012>, 2007.

LI, Q. X.; CHANG, C. L. Basil (*Ocimum basilicum* L.). In PREDDY, V. **Essential Oils in Food Preservation Flavor and Safety**, Academic Press. p.231-238, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016 / b978-0-12-416641-7.00025-0>.

LIMA, H. R. P.; KAPLAN, M. A. C.; CRUZ, A. V. M. Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenóides em plantas. **Revista Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 10, n. 2, p. 71 - 77, 2003.

LINSMAIER, E. M.; SKOOG, F. Medium modified after: **Plant Physiology**, Rockville, v. 18, p. 100-127, 1965. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.13993054.1965.tb06874.x>.

LORENZI, H.; MATOS F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 544 p.

MAGGIONI, M. S.; ROSA, C. B. C. J.; ROSA JUNIOR, E. J.; SILVA, E. F.; ROSA, Y. B. C. J.; SCALON, S. P. Q.; VASCONCELOS, A. A. Desenvolvimento de mudas de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em função do recipiente e do tipo e densidade de substratos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 16, n. 1, p. 10-17, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722014000100002>.

MARQUES, P. M. V.; BOLZAN, M. F.; XAVIER, A.; OTONI, W. C. Trocas gasosas influenciam na morfogênese *in vitro* de cultivares de oliveira (*Olea europaea* L.). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 37, p. 19-29, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-67622013000100003>.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Plant Physiology**, Rockville, v. 15, p. 473-97, 1962. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052>.

NADEEM, M.; HAIDER, A.; YOUNAS, M. AHMAD, W.; ZAHIR, A.; HANO, C. LED-enhanced biosynthesis of biologically active ingredients in callus cultures of *Ocimum basilicum*. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, Lausanne, v. 190, p. 172-178, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.09.011>.

NICULAU, E. S.; ALVES, P. B. Influência do processamento da folha e tipo de secagem no teor e composição química do óleo essencial de manjeriço cv. Maria Bonita. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 2, p. 291-296, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000200009>.



NIAZIAN, M. Application of genetics and biotechnology for improving medicinal plants. **Planta**, Berlin, v. 249, n. 4, p. 953-973, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03099-1>.

PALMA, D.; SCHUELTER, A. R.; STEFANELLO, S.; FORTES, A. M. T. Aspectos morfofisiológicos e controle da hiperhidricidade na cultura de tecido. **Bras. Agrocência**, Pelotas, v. 17, n. 2-4, p. 174-184, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.18539/cast.v17i2>.

PARK, S. W.; JEON, H. H.; KIM, H. S.; PARK, Y. M.; ASWATH, C.; JOUNG, H. Effect of sealed and vented gaseous microenvironments on the hyperhydricity of potato shoots *in vitro*. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 99, p.199-205, 2004. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(03\)00097-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(03)00097-9).

PAULUS, D.; VALMORBIDA, R.; FERREIRA, S. B.; ZORZZI, I. C.; NAVA, G. A. Biomassa e composição do óleo essencial de manjeriço cultivado sob malhas fotoconversoras e colhido em diferentes épocas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, n. 34, p. 46-53, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620160000100007>.

PIMENTEL, F. A.; CARDOSO, M. G.; SALGADO, A. P. S. P.; AGUIAR, P. M.; SILVA, V. F.; MORAIS A. R.; NELSON D. L. A convenient method for determination of moisture in aromatic plants. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 373-375, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422006000200031>.

PINTO, J. A. O.; BLANK, A. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; ANDRADE, T. M.; SAMPAIO, T. S.; PEREIRA, K. L. G. Chemical characterization of the essential oil from leaves of basil genotypes cultivated in different seasons. **Blacpma**. Santiago, v. 18, n. 1, p. 58 - 70, 2019. DOI: <https://doi.org/10.35588/blacpma.19.18.1.05>.

RIBEIRO, P. G. F.; DINIZ, R. C. **Plantas aromáticas e medicinais: cultivo e utilização**. Londrina: IAPAR, 2008, 218 p.

ROSADO, L. D. S.; PINTO, J. E. B. P.; BOTREL, P. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; SIAHSAR, B., RAHIMI, M., TAVASSOLI, A., RAISSI, A. Application of biotechnology in production of medicinal plants. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, Faisalabad, v. 1, n. 439, p. 444, 2011.

Disponível em:

[https://www.researchgate.net/publication/266231628\\_Application\\_of\\_Biotechnology\\_in\\_Production\\_of\\_Medicinal\\_Plants](https://www.researchgate.net/publication/266231628_Application_of_Biotechnology_in_Production_of_Medicinal_Plants). Acesso em: 30 out. 2020.

SALISBURY, F.B. e ROSS, C.W. **Fisiologia das plantas**. 4. ed. Editora Cengage Learning. São Paulo, 2012, 774p.

SILVA, S. M.; CUNHA, J. P. A. R.; CARVALHO, S.M.; ZANDONADI, C. H. S.; MARTINS, R. C.; CHANG, R. *Ocimum basilicum* essential oil combined with deltamethrin to improve the management of *Spodoptera frugiperda*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 41, n. 6, p. 665-675, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-70542017416016317>.

SILVA, A. S.; OLIVEIRA, R. C.; LUZ, J. M. Q.; SILVA, S. M.; BLANK, A. F.; ALVES, M. F.; LANA, R. M. Q. Fertilization and cropping systems: performance and oil content of basil varieties. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 35, n. 1, p. 89-100, 2019. DOI: <https://doi.org/10.14393/bj-v35n1a2019-41451>.

SILVEIRA, D. G.; VIDAL, M. A.; LEDO, C. A. S.; SANTANA, R. F.; SOUZA, F. V. D. Aspectos morfofisiológicos na pré-aclimatização *in vitro* e aclimatização de plantas de caroá. **Revista Ciência Agronômica**, Jaboticabal, v. 44, n. 3, p. 544-553, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-66902013000300017>.

SHIH, M. L.; MORGAN, J. A. Metabolic Flux Analysis of Secondary Metabolism in Plants. **Metabolic Engineering Communications**, Amsterdam, v. 10, e00123, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mec.2020.e00123>.

SOUZA, G. L. O. D.; ALVES, K. A.; NETO, A. I.; ANDRADE, L. F.; DURÃES, N. N. L.; OLIVEIRA, M. B.; LONDE, L. N.; SOUZA, A. S. Efeito de Concentrações de

Sacarose e de Meio de Cultura (8S) sobre o crescimento de mandioca cultivar Mico (BGM 1014) Conservadas *in vitro*. CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, **Anais...** 6, Búzios/RJ, Brasil, 2011.

THORPE, T. History of plant tissue culture. **Methods in Molecular Biology**, Totowa, v. 877, p. 9-27, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12033-007-0031-3>.

TSURO, M.; KODA, M; INOUE, M. Efficient plant regeneration from multiple shoots formed in the leaf-derived callus of *Lavandula vera*, using the "open culture system". **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 86, n. 1, p. 81-88, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(00\)00140-0](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(00)00140-0).

WATANABE. H. Light-controlled plant cultivation system in Japan—Development of vegetable factory using LEDs as a light source for plants. **Acta Horticulturae**, The Hague, 9073744, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2011.907.2>.

WOJTANIA, A.; WĘGRZYNOWICZLESIAK, E. Ethylene and cytokinin interaction in the morphogenesis of *Pelargonium × hortorum* L.H. Bailey *in vitro*. **Acta Physiologiae Plantarum**, Poznan, v. 34, n. 6, p. 2407-2412, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11738-012>.

## CAPÍTULO 2

### Meios de cultura e tipos de tampas em manjeriço *in vitro*

OLIVEIRA, RAYSSA CAMARGO. **Meios de cultura e tipos de tampas de recipiente em manjeriço *in vitro***. 2020. 90p. Tese (Doutorado em Agronomia/ Fitotecnia) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

#### RESUMO

A utilização de técnicas de micropropagação em plantas aromáticas possibilita a produção de um genótipo em larga escala com condições controladas. Dentre essas condições controladas estão o tipo de meio de cultura, o ambiente dentro do frasco e o material genético. Dessa forma, o presente trabalho objetivou avaliar os efeitos do uso de meios de cultura LS e MS e da utilização de tampas com um ou dois filtros no cultivo *in vitro* de quatro cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia, onde os segmentos nodais das quatro cultivares foram inoculados individualmente em frascos contendo meio MS e LS 50% e no segundo experimento os segmentos nodais foram inoculados em frascos com meio MS 50% e tampas com ou sem filtros. Posteriormente os frascos foram mantidos por 60 dias em sala de crescimento e ao final foram avaliadas as características número de folhas e brotos, comprimento de parte aérea e radicular, massa seca, índice Teor de clorofila, porcentagem de contaminação, de sobrevivência, e de hiperhidricidade. O manjeriço *in vitro* apresentou maior massa seca e menor taxa de hiperhidricidade quando cultivado em meio de cultura MS 50% e quando cultivado em recipientes com tampas sem filtro resultou em maior massa seca e menor contaminação.

Palavras-chave: Micropropagação. Cultivares. Microambiente. Nutrientes.

#### ABSTRACT

The use of micropropagation techniques in aromatic plants enables large-scale production under controlled conditions. Among these controlled conditions are the type of culture medium, the environment inside the bottle and the cultivar. Thus, this study aimed to

evaluate the effects of using the LS and MS culture media in addition to lids with one or two filters for the *in vitro* cultivation of four basil cultivars (*Ocimum basilicum* L.). The experiments were carried out at the Biotechnology Laboratory of the Federal University of Uberlândia, where the nodal segments of the four cultivars were individually inoculated in flasks containing 50% MS and LS medium and in the second experiment the nodal segments were inoculated in flasks with 50% MS medium and lids with or without filters. After that, the flasks were kept for 60 days in a growth room and at the end the characteristics were evaluated, such as number of leaves and buds, length of aerial and root parts, dry mass, Spad index, percentage of contamination, survival, and hyperhydricity. Basil *in vitro* reacted better to the use of 50%MS culture medium. and the cap without a filter resulted in better biometric characteristics and less contamination in the *in vitro* cultivation of basil.

Keywords: Micropropagation. Cultivars. Microenvironment. Nutrients.

## INTRODUÇÃO

A cultura de tecidos vegetais mostra-se como alternativa através de diferentes técnicas, que permite a propagação massal de espécies aromáticas que apresentam grande heterogeneidade via propagação por sementes como é o caso do manjeriço (PINHAL, 2017), o que permite produzir mudas em larga escala pela micropropagação além de incluir espécies em bancos de germoplasma e promover o intercâmbio dessas.

A micropropagação além de disponibilizar maior quantidade de mudas em curto período de tempo permite também o controle das condições ambientais durante a propagação e a preservação de plantas matrizes sem riscos de infecção por microrganismos (BANDINELLI et al., 2013). No entanto, é necessário o estabelecimento de protocolos que melhor se adequem às exigências de cada espécie. Dessa forma, a cultura de tecidos mostra-se como técnica de grande relevância, que otimiza o processo propagação mantendo as características desejadas.

Um aspecto fundamental para realizar a micropropagação de uma planta é o domínio da tecnologia de propagação em laboratório, o qual é o resultado de estudos realizados com os fatores que afetam o crescimento e o desenvolvimento das plantas *in vitro*. Os meios de cultura de tecidos são constituídos por água, macro e micronutrientes,

vitaminas, mio-inositol, uma fonte de energia (carboidrato) e um agente geleificante necessários as plantas. Esses componentes oferecem as condições necessárias para o desenvolvimento das plantas, porém, diferentes combinações são requeridas a depender da espécie (CID, 2014).

Diversos trabalhos testando meios de cultura no cultivo *in vitro* de manjeriço são encontrados, entretanto há poucos trabalhos testando ao nível de cultivares, o que justifica trabalhos como este (COSTA et al., 2012).

O tipo de vedação utilizado no frasco de cultura também é um fator que determina a qualidade do microambiente dentro dos frascos por influenciar nas trocas gasosas com o ambiente externo. O microambiente dentro dos frascos de cultura parece ser um ambiente homogêneo, mas na verdade é o responsável pela variabilidade no comportamento das culturas, uma vez que os fatores determinantes para a qualidade do microambiente são os tipos de frasco, tipo de tampa e quantidade de meio presente.

## **OBJETIVO**

Objetivou-se avaliar o efeito do meio de cultura *in vitro* e dos tipos de tampas dos recipientes em cultivares de manjeriço.

### **Objetivos específicos**

Estudar o efeito das diferentes composições dos meios de cultura *in vitro* sob as cultivares de manjeriço.

Identificar a tampa de frascos de cultivo *in vitro* mais propícia para o desenvolvimento das cultivares de manjeriço.

Analisar a biometria e fisiologia das cultivares de manjeriço.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os dois experimentos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia. Sementes de manjeriço (*Ocimum basilicum*) das cultivares: Anise, Cinnamon, Grecco a Palla e Italian Large Leaf obtidas através da empresa Richters Herbs foram utilizadas como fonte de explantes.

As sementes foram desinfestadas em álcool 70% durante um minuto e em solução de hipoclorito de sódio 30% por vinte minutos. Em seguida, em câmara de fluxo laminar foram lavadas três vezes com água destilada e autoclavada.

No primeiro experimento, os frascos de vidro transparentes contendo 30 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) e LS (LINSMAIER e SKOOG, 1965) foram preparados nas concentrações 50% conforme TRENTO (2017). Utilizou-se 1,8 g L<sup>-1</sup> de Phytigel, 3% de sacarose, ajuste do pH para 5,7 e em seguida os frascos foram autoclavados a 121°C e 1,2 atm durante 20 minutos. E, as sementes foram inoculadas nos frascos, levadas até a sala de crescimento para desenvolvimento das plântulas durante 60 dias.

Os frascos foram vedados com tampas de polipropileno sem filtro e lacrados com filme PVC. A sala de crescimento foi mantida à um fotoperíodo de 16 horas por dia, temperatura de 25±2°C, com intensidade luminosa de 52,5W m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, fornecida por lâmpadas brancas fluorescentes.

O experimento foi realizado em esquema fatorial 4x2 em que o primeiro fator foi meio de cultura e o segundo cultivares. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados (DBC) afim de evitar a heterogeneidade de luminosidade dentro da sala de crescimento. Cada tratamento foi composto por cinco repetições sendo que cada parcela experimental consistiu de dez frascos e cada frasco continha cinco sementes.

Após 60 dias da inoculação dos explantes, foram avaliadas as seguintes características: número de folhas, de brotos, comprimento dos brotos, da parte radicular, massa seca, porcentagem de sobrevivência e de plântulas com hiperhidricidade.

O segundo experimento foi instalado de maneira similar ao primeiro experimento, porém os frascos foram vedados com tampas de polipropileno (Anexo -figura 11) com um filtro, dois e sem filtros.

O meio de cultura utilizado foi MS50% com pH do meio de cultura ajustado para 5,7 e autoclavado a 121°C e 1,2 atm durante 20 minutos. Posteriormente foi inoculado as sementes fontes dos explante segmento nodal.

O experimento foi realizado em esquema fatorial 4x3 em que o primeiro fator foi tipo de tampas e o segundo cultivar. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados (DBC) com doze tratamentos e cinco repetições. Cada parcela experimental consistiu de cinco frascos sendo que cada frasco continha cinco explantes.

Depois de 60 dias da inoculação dos segmentos foi realizada avaliação das seguintes características: número de folhas e brotos, comprimento da parte aérea e radicular das plântulas (cm), massa seca (g), teor de clorofila e porcentagem de contaminação das plântulas desenvolvidas (%).

Metade das plantas cultivadas *in vitro* com diferentes tampas foram avaliadas conforme características descritas acima, porém não foi realizada a massa seca. Essas plantas foram transplantadas para bandeja de isopor para avaliação da porcentagem de aclimatização.

Os dados obtidos nos dois experimentos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa estatístico Sisvar 4.3 (FERREIRA, 2014) com posterior aplicação do teste médias Tukey. Através do programa estatístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) foram testadas e atendidas as pressuposições de normalidade dos resíduos, homogeneidade das variâncias e aditividade de blocos, com os testes de Shapiro-Wilk, Levene e Tukey a 0,01 de significância (IBM, 2013).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### Experimento 1: Meios de cultura e cultivares de manjerição

Observou-se que houve interação significativa dos fatores testados para as seguintes variáveis avaliadas: quantidade de folhas desenvolvidas (FOL) e comprimento da parte aérea das plântulas (AER). Já para as características comprimento da parte radicular (RAD), massa seca de plântulas (MSE) e porcentagem de plântulas com hiperhidricidade (HIP) a interação não foi significativa, o que caracteriza independência dos fatores estudados, sendo assim, foram analisados isoladamente (Anexo 1).

Verificou-se que a variável número de brotos (NBR) e porcentagem de sobrevivência (SOB) com média geral de 2,62 e 95% respectivamente não diferiram frente ao uso dos dois meios de cultura.

Os dados obtidos apontam que o número de folhas produzidas pelas cultivares de manjerição não diferiram quando cultivadas em meio MS ou LS, com exceção da cultivar Anise que em meio MS produziu mais folhas que as demais (Quadro 1). Essa maior produção de folha das cultivar Anise pode ter relação com a maior quantidade das vitaminas ácido nicotínico, piridoxina e do aminoácido glicina no meio MS (Tabela 1).



O ácido nicotínico (niacina ou vitamina B) é um alcaloide presente nas moléculas de NAD e NADP (nicotinamida adeninadineucleotídeo) envolvida na fotossíntese, a vitamina piridoxina B6 participa em reações de degradação de aminoácidos, sendo que um dos produtos finais é a acetil-coenzima A do processo da respiração, necessária à produção de energia e a síntese de proteínas, lipídios e acetilcolina (FRANK, 2013) e a glicina é um aminoácido precursor da síntese de clorofila e também age nos mecanismos de defesa dos vegetais (GIOACCHINO et al., 2019).

Em meio LS, além do número de folhas, a cultivar Grecco a Palla também apresentou maior comprimento da parte aérea que a cultivar Anise, o que demonstra maior capacidade de adaptação da Grecco a Palla à ausência de determinados componentes no meio LS (Tabela 1).

O meio LS difere do MS por não apresentar algumas vitaminas e aminoácido e existem plantas que não são capazes de sintetizar suas próprias vitaminas e isso pode ter ocorrido por exemplo com as plantas cultivares Anise. Dessa forma, a incorporação dessas substâncias é sempre um fator a ser estudado e em se tratando de drenos, raízes, por exemplo, a suposição de que nem todos os seus requerimentos nutricionais orgânicos sejam sintetizados ficou evidenciada quando se observou que, na presença de algumas vitaminas (tiamina, piridoxina, ácido nicotínico, etc.), o crescimento das raízes melhoraram sensivelmente (SALISBURY e ROSS, 2012).

Tabela 1: Número de folhas e comprimento de parte aérea de plântulas de cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum*) *in vitro* em diferentes meios de cultura, Uberlândia-MG, 2020.

Cultivares	Número de folhas		Comprimento da parte aérea (cm)	
	MS	LS	MS	LS
Anise	9,69 Aa <sup>1</sup>	5,00 Bb	3,67 Ab	2,33 Ab
Cinnamon	10,43 Aa	7,50 Ab	7,00 Aa	5,33 Ba
Grecco Palla	13,16 Aa	16,80 Aa	3,33 Ab	4,83 Aa
Italian l. leaf	9,05 Aa	6,33 Ab	4,50 Ab	3,33 Aab
Médias	10,58	8,90	4,62	3,95

<sup>1</sup>médias seguidas por letras distintas minúscula na coluna e maiúscula na linha diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

O manjeriço Cinnamon quando cultivado em meio MS resultou em plantas de maior comprimento de parte aérea do que as Cinnamon cultivadas em meio LS. Quando se inoculou as cultivares em meio MS também verificou-se que o comprimento de parte aérea de Cinnamon foi superior à das demais cultivares, porém quando se cultivou em meio LS, Cinnamon apenas apresentou maior altura que a cultivar Anise (Tabela 1).

As plantas de manjeriço quando cultivadas em meio MS e LS produziram estatisticamente as mesmas quantidades de brotos, porém ao nível de cultivares verificou-se que Grecco a Palla e Italian Large Leaf produziram maior número de brotos do que Anise (Tabela 2). Isso ocorre porque a cultivar Grecco a Palla apresentam também expressiva quantidade de ramificações na condição normal *ex vitro*. Isso pode ter acontecido também com Italian Large Leaf como reflexo hormonal provocado pelo ambiente *in vitro*.

Tabela 2: Número de brotos, comprimento radicular (cm), massa seca de plântulas (g) e porcentagem de hiperhidricidade em cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum*) propagados in vitro em meios LS e MS. Uberlândia-MG, 2020.

Cultivares	Nº de brotos	Comp.raiz	Massa seca	% Hiperhidricidade
Anise	1,64 b <sup>1</sup>	6,68 a	0,04 a	21,67 b
Cinnamon	2,54 ab	7,51 a	0,05 a	5,83 a
Grecco a Palla	3,90 a	6,08 ab	0,09 a	20,83 b
Italian Large	3,88 a	4,20 b	0,09 a	6,66 a
Média	2,99	6,11	0,06	13,74

Meio	Nº de brotos	Comp.raiz	Massa seca	% Hiperhidricidade
LS	2,83 a	6,07 a	0,04 b	15,83 b
MS	2,41 a	6,17 a	0,15 a	11,67 a
Média	2,62	6,11	0,09	13,75

<sup>1</sup>médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

Verificou-se que o tamanho radicular das plantas *in vitro* não foi influenciado pelas diferentes composições de meio de cultura testadas, entretanto dentre as cultivares de manjeriço cultivadas, a Italian Large Leaf desenvolveu menos seu sistema radicular do que as cultivares Anise e Cinnamon (Tabela 2).

As plantas de manjeriço cultivadas em meio MS apresentaram maior massa seca e menor porcentagem de hiperhidricidade. Esta resposta pode estar associada ao enriquecimento nutricional que este meio de cultura possui, o que lhe confere maior força iônica, suprimindo melhor os requerimentos nutricionais que a espécie em estudo necessita (NEPONUCENO et al., 2014).

A hiperhidricidade é uma desordem fisiológica recorrente na micropropagação de espécies da família Lamiaceae, como por exemplo *Lavandula dentata* (ECHEVERRIGARAY et al., 2010), *Lavandula angustifolia* (OLIVEIRA et al., 2019) e *Salvia miltiorrhiza* (CHEN et al., 2005). Ela provoca alteração na morfologia da planta, queda na produção de energia química na forma de nucleotídeos de piridina, NADPH e NADH, além de ATP e também prejudica a capacidade de absorção de nutrientes e talvez por isso as plantas de manjeriço com maior incidência de hiperhidricidade também apresentam menor massa seca (VASCONCELOS et al., 2012).

## Experimento 2: Uso de diferentes tampas

Através do resumo da análise de variância do segundo experimento, observou-se que houve interação significativa entre os fatores tipos de tampas e cultivares para as seguintes variáveis: número de folhas desenvolvidas (FOL), comprimento parte aérea (AER), comprimento parte radicular (RAD), massa seca de plântulas (MSE), teor de clorofila (SPD). Apenas para as características número de brotos (NBR) e porcentagem de contaminação (CON) a interação não foi significativa, o que caracteriza independência dos fatores estudados (Anexo 2)

A cultivar Italian Large Leaf produziu mais folhas que as demais cultivares quando mantida em frascos sem filtro. Isso provavelmente ocorreu porque essa cultivar requer maior quantidade de umidade e quando há filtros na tampa, apesar de facilitar a troca gasosa também aumenta a perda de água.

Já as plantas da cultivar Maria Bonita produziram mais folhas quando em ambiente com dois filtros (Tabela 3), o que demonstra que ela é uma cultivar que reage melhor em ambiente com trocas gasosas. Ao produzir maior número de folhas nos ambientes com dois filtros a cultivar Maria Bonita produziu também maior teor de clorofila e massa seca de plântulas conseqüentemente.

Apesar da cultivar Maria bonita produzir mais folhas no ambiente com filtros, as plantas cresceram mais a parte aérea quando cultivadas em frascos sem os orifícios. Entretanto em ensaio similar com espécie *Tectona grandis*, também da família Lamiaceae, foi verificado a produção de plantas maiores quando usado tampas com filtros o que demonstra a singularidade do comportamento *in vitro* de cada espécie e cultivar (FERNANDES et al., 2013).

Tabela 3: Número de folhas e teor de clorofila, comprimento de parte aérea e radicular (cm) de cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum*) propagados in vitro com tampas de um, dois e sem filtros. Uberlândia-MG, 2020.

Cultivar	Número de folhas			Teor de clorofila			Comprimento de parte aérea (cm)			Comprimento radicular (cm)		
	Sem filtro	1 filtro	2 filtros	Sem filtro	1 filtro	2 filtros	Sem filtro	1 filtro	2 filtros	Sem filtro	1 filtro	2 filtros
Anise	14,7 Ab <sup>1</sup>	18,3Aa	18,0 Ab	24,5Aa	16,4 Ba	16,3 Bab	4,31 Ab <sup>1</sup>	6,67 Aa	8,00 Aa	5,68 Aa	4,58 Aa	4,00 Ab
Cinnamon	19,2 Ab	18,70Aa	12,0 Ab	11,3 Ab	14,4 Aa	9,0 Ab	8,39 Aab	5,92 Aa	4,50 Aa	6,11 Ba	5,08 Ba	13,50 Aa
Italian L.	32,5 Aa	20,7 Ba	18,0BAb	16,5ABab	22,4 Aa	10,4 Bb	4,25 Ab	3,41 Aa	3,50 Aa	4,75 Aa	3,00 Aa	4,75 Ab
M.Bonita	21,0ABb	17,0Ba	27,0 Aa	12,9 Ab	15,8 Aa	19,4 Aa	13,25 Aa	6,96 Ba	7,25 Ba	5,25 Aa	5,12 Aa	3,3 Ab

<sup>1</sup>médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância;

Quando se cultivou manjeriço *in vitro* com tampas sem orifício, a cultivar que se destacou produzindo folhas foi Italian Large Leaf. E quando na tampa havia apenas um filtro todas as cultivares reagiram de maneira similar quanto a quantidade de folhas, brotos, clorofila, comprimentos de parte aérea, comprimento radicular e porcentagem de contaminação. Porém quando na tampa dos frascos haviam dois filtros, diferenças entre cultivares foram detectadas novamente.

Em todos os tipos de tampas testadas a cultivar Anise se comportou praticamente igual quanto as características avaliadas diferindo apenas quanto a quantidade de clorofila produzida. O teor de clorofila dessa cultivar foi superior nos cultivos em ambientes completamente fechados. Esse menor teor de clorofila provocado pela presença de filtros pode ter ocorrido em virtude de um estresse hídrico provocado pela diminuição do teor de água dentro do frasco.

As cultivares de manjeriço micropropagadas em ambiente completamente fechado apresentaram redução de 1,67% na porcentagem de contaminação. Isso implica em menores gastos com retrabalho e descarte de material contaminado, entretanto é necessário certificar que o excesso de CO<sub>2</sub> e etileno no interior do frasco não favoreçam o aumento da hiperhidricidade das plantas.

O etileno é um hormônio vegetal que se apresenta em estado gasoso e está ligado ao fenômeno de senescência celular. Dessa forma, o cultivo *in vitro* onde a cultura de interesse permanece em ambiente hermeticamente fechado pode repercutir em efeitos negativos ao crescimento e desenvolvimento. Além disso, é necessário certificar se a ordem de perda por contaminação de 1,67% nos ambientes com orifício não é compensada pela maior rustificação e aclimatização provocada nas plantas.

As cultivares de manjeriço micropropagadas em ambiente completamente fechado também apresentaram maior quantidade de massa seca de plântulas (Tabela 4). Choudhury e Bordoloi (1988) identificaram que plantas da espécie *Ocimum gratissimum* produziram em *ex vitro* maior massa vegetal quando em condições de altas temperatura e umidade. Resultados como esse podem estar relacionados a sensibilidade a umidade apresentada por indivíduos do gênero *Ocimum* ou ainda que os filtros permitiram excessiva perda de água.

Tabela 4: Número de brotos, massa seca e porcentagem de contaminação de cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum*) propagados *in vitro* com tampas de um, dois e sem filtros. Uberlândia-MG, 2020.

Cultivares	Número de brotos	Massa seca	% Contaminação
Anise	1,64 b <sup>1</sup>	2,02 b	6,22 a
Cinnamon	2,54 ab	1,64 b	6,00 a
Italian Large Leaf	3,88 a	2,13 b	5,55 a
Maria Bonita	2,84 ab	4,06 a	6,33 a
Média	2,72	2,46	6,02

Tampas	Número de brotos	Massa seca	% Contaminação
Sem filtro	3,13 a	8,65 a	4,33 a
1 filtro	2,54 a	2,95 b	6,00 b
2 filtros	2,50 a	2,13 b	7,67 c
Média	2,72	4,57	6,00

<sup>1</sup>médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

## CONCLUSÃO

O manjeriço (*Ocimum basilicum*) *in vitro* cultivado em meio de cultura MS produziu plantas com maior matéria seca e menor porcentagem de hiperhidricidade.

A tampa sem filtro resultou em maior massa de plântulas e menor contaminação no cultivo *in vitro* de manjeriço.

## REFERÊNCIAS

BANDINELLI, M. G.; BANDINELLI, M. G.; BISOGNIN, D. A.; GNOCATO, F. S.; MAMBRIN, R. B.; SAUSEN, D.; NICOLOSO, F. T. MS salt and sucrose concentrations in the *in vitro* multiplication and acclimatization of potato. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 2, n. 31, p. 242-247, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362013000200011>.

LIMA-BRITO, A.; ALBUQUERQUE, M. M. S.; RESENDE, S. V.; CARNEIRO, C. E.; SANTANA, J. R. F. Rustificação *in vitro* em diferentes ambientes e aclimatização de microplantas de *Comanthera mucugensis* Giul. subsp. *Mucugensis*. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 47, n. 1, p. 152-161, 2016.

<http://dx.doi.org/10.5935/1806-6690.20160018>.

CID, L. P. B. **Cultivo *in vitro* de plantas**. 3. ed. Brasília DF: Embrapa, 2014. 325p.

COSTA, A. S.; SILVA, J. H. S.; TORRES, M. F.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; BLANK A. F. Composição do meio de cultura na redução da hiperhidricidade *in vitro* em híbrido de manjeriço. **Horticultura Brasileira**, Brasília, n. 30, p. 168-172, 2012.

CHEN, U. C.; SHIAU, Y. J.; TSAY, H. S.; HSIA, C. N. Influence of cytokinin and ventilating container closure on shoot proliferation and hyperhydricity of *in vitro* *Salvia miltiorriza* culture. **Journal of Taiwan Agricultural Research**, Taichung City, n. 54, p. 93-102, 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132010000400018>.

CHOUDHURY, S. M.; BORDOLOI, D. N. Effect of sowing on the growth, yield and oil quality of *Ocimum gratissimum* L. **Indian. Perfumer**, New Delhi, v. 30, p. 254-260, 1988.

ECHEVERRIGARAY, S.; CARRER, R. R.; ANDRADE, L. B. Micropropagation of *Salvia guaranitica* Benth. Through axillary shoot proliferation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 53 n. 4, p. 883-888, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132010000400018>.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>.

FERNANDES, D. A.; AZEVEDO, P.H.; COSTA, R. B.; BRONDANI, G. E. Tipos de vedação e concentrações de sacarose no cultivo *in vitro* de *Tectona grandis* L.f. **Revista**



**de Agricultura**, Piracicaba, v. 88, n. 3, p. 218 – 228, 2013. DOI: <https://doi.org/10.37856/bja.v88i3.114>.

FRANK, A.W. **Vitamins - Water-Soluble: Thin-Layer** (Planar) Chromatography. Chemistry of Plant Phosphorus Compounds. 2013.

GIOACCHINO, M. D.; RICCI, M. A.; IMBERTI, S.; HOLZMANN, N.; BRUNI, F. Hydration and Aggregation of a Simple Amino Acid: The Case of Glycine. **Journal of Molecular Liquids**, Amsterdam, v. 301, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.112407>.

IBM Corp. **IBM SPSS Statistics for Windows**, Version 22,0. Armonk, K.Y.: IBM Corp, 2013.

LINSMAIER, E. M.; SKOOG, F. Medium modified after: **Plant Physiology**, Rockville, v. 18, p. 100-127, 1965. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.13993054.1965.tb06874.x>.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Plant Physiology**, Rockville, v. 15, p. 473-97, 1962. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052>.

NEPONUCENO, C. F. I.; FONSECA, P. T. I.; SILVA, T. S. I.; OLIVEIRA, L. M. I.; SANTANA, J. R. F. I. Germinação *in vitro* de *Hyptis leucocephala* Mart. ex Benth. e *Hyptis platanifolia* Mart. ex Benth. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 16, n. 4, p. 885-895, 2014. DOI: [http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/12\\_093](http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/12_093).

OLIVEIRA, R. C.; ASMAR, S. A.; SILVA, H. F. J.; MORAIS, T. P.; LUZ, J. M. Q. Regulators, culture media and types of lights *in vitro* lavender culture. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 49, n. 11, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20180966>.

PINHAL, H. F.; ARARUNA, E. da C.; CARNEIRO, P. A. P.; ASMAR, S. A.; MELO, B. de; LUZ, J. M. Q. Concentration of ms medium and cutting of seeds on *in vitro*

establishment of baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 33, n. 22, p. 306-313, 2017. DOI: <https://doi.org/10.14393/BJ-v33n2-36327>.

SALISBURY, F.B. e ROSS, C.W. **Fisiologia das plantas**. 4. ed. Editora Cengage Learning. São Paulo, 2012, 774p.

SILVA, S. M.; MAGNO, J. M. Q.; NOGUEIRA, P. A. M.; BLANK, A. F.; SAMPAIO, T. S.; PINTO, J. A. O.; JÚNIOR, W. A. Organo-mineral fertilization effects on biomass and essential oil of lavender (*Lavandula dentata* L.). **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 103, p. 133-140, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.004>.

IBM Corp. **IBM SPSS Statistics for Windows**, Version 22,0. Armonk, K.Y.: IBM Corp, 2013.

TRENTO, S. M. **Hiperidricidade, luz e reguladores de crescimento no cultivo *in vitro* de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)**. 2017. 64p. Dissertação (Mestrado em agronomia). Instituto de Ciências Agrárias. DOI: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2017.227>.

VASCONCELOS, A. G. V; TOMAS, L. F.; CAMARA, T. R.; WILLADINO, L, Hyperhydricity: A metabolic disorder. **Ciência Rural**, Porto Alegre, n. 42, v. 5, p. 837-844, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782012000500013>.

## CAPÍTULO 3

### **Ambientes luminosos em manjeriço *in vitro***

#### RESUMO

OLIVEIRA, RAYSSA CAMARGO. **Ambientes luminosos em manjeriço *in vitro***. 2020. 90p. Tese (Doutorado em Agronomia/ Fitotecnia) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

O crescimento e a arquitetura das plantas são regulados em parte pela qualidade da luz, sendo a cultura de tecidos *in vitro* uma importante técnica para avaliar a influência da luz no desenvolvimento vegetal. Em virtude disso, torna-se relevante estudar o desenvolvimento inicial de manjeriço (*Ocimum basilicum*) quando submetido a diferentes tipos de luz. Tais resultados podem ser utilizados para produzir plantas com características morfológicas desejáveis. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de fontes luminosas no cultivo *in vitro* das cultivares de *Ocimum basilicum*. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia e cada condição luminosa foi considerada como um experimento independente em virtude da dificuldade de casualização do fator luz. Primeiramente, foi realizado um experimento para avaliar o efeito das fontes luminosas fluorescente, LED amarela, azul, verde e vermelha em cinco cultivares de manjeriço (Cinnamon, Grecco a Palla, Italian Large Leaf, Limoncino e Maria Bonita); e em seguida, outro experimento, com duas condições luminosas de lâmpadas (LED azul e LED Growlux) com as três cultivares que melhor se adaptaram no primeiro experimento (Cinnamon, Grecco a Palla e Limoncino). Ao final foram avaliadas as características número de folha e broto, tamanho de broto e raiz principal, massa fresca e seca e teor de clorofila. As lâmpadas amarelas não propiciaram bom desenvolvimento das plantas de manjeriço *in vitro*. Verificou-se também que o tamanho das raízes e quantidade de massa fresca produzida pelas três cultivares: Cinnamon, Grecco a Palla e Limoncino nas duas condições luminosas foram semelhantes. Além disso, as plantas produziram maior quantidade de folhas e massa fresca e seca quando cultivadas sob lâmpadas LEDs Growlux, porém o teor relativo de clorofila produzida nas folhas não diferiu. Dessa forma conclui-se que as lâmpadas LEDs Growlux promovem maior quantidade de biomassa de manjeriço.

Palavras-chave: Micropropagação. Fluorescente. LED. Cultivares.

'Orientador: José Magno Queiroz Luz- UFU

### **Lighting environments *in vitro* basil**

#### **ABSTRACT**

Plant growth and architecture are partly regulated by the quality of light, with tissue culture being an important technique for assessing the influence of light on plant development. As a result, it is relevant to study the initial development of basil (*Ocimum basilicum*) When subjected to different types of light. Such results can be used to produce plants with desirable morphological characteristics. The objective of this work was to evaluate the *in vitro* cultivation of *Ocimum basilicum* under different light sources: fluorescent, yellow, blue, green and red LED and Growlux LED. The experiments were carried out at the Biotechnology Laboratory of the Federal University of Uberlândia and each light condition was considered as an independent experiment due to the difficulty of randomizing the light factor. First, an experiment was carried out to evaluate the effect of fluorescent light sources, yellow, blue, green and red LEDs on five basil cultivars (Cinnamon, Grecco a Palla, Italian Large Leaf, Limoncino and Maria Bonita); and then, another experiment, with two light conditions of lamps (blue LED and Growlux LED) in the three cultivars that best adapted in the first experiment (Cinnamon, Grecco a Palla and Limoncino). At the end, the characteristics of leaf and shoot number, shoot size and main root, fresh and dry mass and Spad index were evaluated. The statistical analysis was joint due to the difficulty of randomizing the light factor. The yellow lamps did not provide good development of basil plants *in vitro*. It was also found that the size of the roots and the amount of fresh mass produced by the three cultivars: Cinnamon, Grecco a Palla and Limoncino in the two light conditions were similar. In addition, the plants in general produced a greater amount of leaves and fresh, dry mass when grown under Growlux LED lamps, but the relative chlorophyll content produced in the leaves did not differ. Thus, it is concluded that the Growlux LED lamps promote a greater amount of basil biomass.

**Keywords:** Micropropagation. Fluorescent. LED. Cultivars.

## INTRODUÇÃO

O fator luz é um fator climático muito importante no cultivo vegetal pois sua energia radiante transmitida é responsável por excitar o aparato fotossintético das plantas permitindo sua manutenção. No caso da cultura vegetal *in vitro* as plantas podem ser utilizadas para o aumento da produção de metabólitos secundários de valor agregado através de várias estratégias. Entre essas plataformas, a mais importante é a eliciação, que usa vários elicitores abióticos e bióticos. Entre os elicitores abióticos, a luz e sua qualidade têm um papel significativo na fotossíntese e no desenvolvimento como um todo (YUE et al., 2016).

As qualidades espectrais da luz contêm informações ambientais usadas pelas plantas como pistas para modificar sua biologia, a fim de se adaptar e sobreviver. As lâmpadas baseadas em LED, com suas propriedades espectrais altamente definíveis, oferecem grandes perspectivas para uso na produção *in vitro*. Os efeitos das qualidades espectrais da luz na fisiologia das plantas ainda não são totalmente compreendidos, e uma grande fração do conhecimento atual vem de estudos que analisam efeitos de curto prazo ou do uso de tratamentos de luz monocromáticos em câmaras de crescimento fechadas (JESSEN et al., 2018).

Diversos relatórios mostraram que a qualidade da luz afeta a morfologia e fisiologia de plantas que varia significativamente dependendo de cada indivíduo. Dessa forma, a cultura de tecidos se torna uma importante técnica em virtude da possibilidade de clonagem e micropropagação de plantas permitindo uma maior homogeneidade (SHOHAEL, 2016). Entretanto, o consumo energético em um laboratório de cultura de tecidos corresponde a grande parte dos custos de produção o que torna importante a busca por lâmpadas mais econômicas para o cultivo *in vitro* sem comprometer a produção de folha que é uma das principais matéria prima para a indústria do setor de plantas aromáticas como o manjeriço .

A espécie *Ocimum basilicum* conhecida popularmente como manjeriço, pertence à família botânica Lamiaceae e é uma planta muito aromática por conter numerosas glândulas sebáceas que armazenam óleos essenciais. Essa espécie apresenta

fitofisionomia subarborescente anual ou bienal, ramificada ereta até 130 cm de altura, de caule ramificado, verde claro a avermelhado na base; folhas verdes, grandes, sedosas, simples, serradas e ovadas ou agudas, de 3 a 11 cm de comprimento, 1 a 6 cm de largura. As flores são pequenas e esbranquiçadas ou roxa, reunidas em racemos terminais curtos, as sementes são pequenas, negras e do tipo ortodoxas (AL ABBASY et al., 2015).

## OBJETIVO

Objetivou-se avaliar características biométricas e fisiológica no cultivo *in vitro* das cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum*) sob diferentes fontes luminosas.

### Objetivos específicos

Estudar o efeito das fontes de luz no desenvolvimento nas cultivares de manjeriço.

Entender as características biométricas e fisiológicas das cultivares de manjeriço no ambiente *in vitro*.

Identificar possíveis relações entre as características biométricas e fisiológicas das plantas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Uso de lâmpadas fluorescentes e LEDs em cultivares de manjeriço

Cinco experimentos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia. Utilizou-se sementes de manjeriço (*Ocimum basilicum*) das cultivares: Cinnamon, Grecco a Palla, Italian Large Leaf, Limoncino e Maria Bonita oriundas da empresa Richters Herbs.

As sementes foram desinfestadas em álcool 70% durante um minuto e em solução de hipoclorito de sódio 30% por vinte minutos. Em seguida, em câmara de fluxo laminar foram lavadas três vezes com água destilada e autoclavada.

Os frascos de vidro transparentes contendo 30 mL de meio de cultura MS 50% (MURASHIGE e SKOOG, 1962) acrescido de 1,8 g L<sup>-1</sup> de Phytigel, 3% de sacarose

tiveram pH ajustado para 5,7 e em seguida foram autoclavados a 121°C e 1,2 atm durante 20 minutos. Posteriormente, as sementes foram inoculadas nos frascos e foram levados até a sala de crescimento para desenvolvimento das plântulas durante 60 dias. Colocou-se um isopor tampando as prateleiras a fim de evitar interferência entre lâmpadas. A sala de crescimento foi mantida à um fotoperíodo de 16 horas por dia, temperatura de 25±2°C, com intensidade luminosa de 52,5W m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, fornecida por lâmpadas brancas fluorescentes.

Após os 60 dias, realizou-se a extração dos explantes do tipo segmentos nodais para implantar os ensaios em cinco ambientes luminosos de lâmpadas: fluorescentes branca e LEDs amarelo, azul, verde e vermelho (Anexo figura 12).

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados (DBC) com cinco tratamentos e quatro blocos. Cada parcela experimental foi constituída de 10 frascos sendo que cada frasco continha 5 explantes.

Cada condição luminosa foi considerada como um experimento independente em virtude da dificuldade de casualização do fator luz sendo estudado então por análise estatística conjunta (Quadro 1). Foi conduzida a análise de variância conjunta considerando o efeito de genótipo como fixo e o de ambiente como aleatório, conforme o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + B/A_{jk} + G_i + A_j + GA_{ij} + E_{ijk},$$

**Y<sub>ijk</sub>**: representa o i-ésimo genótipo no j-ésimo ambiente e no k-ésimo bloco;

**μ**: é a média geral;

**B/A<sub>jk</sub>**: corresponde ao bloco dentro de ambiente no j-ésimo ambiente e no k-ésimo bloco;

**G<sub>i</sub>**: é o efeito do i-ésimo genótipo;

**A<sub>j</sub>**: é o efeito do j-ésimo ambiente;

**GA<sub>ij</sub>**: é o efeito da interação do i-ésimo genótipo com o j-ésimo ambiente;

**E<sub>ijk</sub>**: é o efeito do erro experimental.

A homogeneidade das variâncias residuais foi verificada por meio da razão entre o maior e o menor quadrado médio de resíduo (QMR), considerando o valor sete como limite para a validação da análise, conforme descrito em CRUZ et al. (2004).

<b>Experimento</b>	<b>Tratamentos</b>	<b>Cultivar</b>	<b>Lâmpada</b>
1	T1	Cinnamon	Fluorescente
	T2	Grecco a Palla	Fluorescente
	T3	Italian Large Leaf	Fluorescente
	T4	Limoncino	Fluorescente
	T5	Maria Bonita	Fluorescente
2	T1	Cinnamon	LED amarela
	T2	Grecco a Palla	LED amarela
	T3	Italian Large Leaf	LED amarela
	T4	Limoncino	LED amarela
	T5	Maria Bonita	LED amarela
3	T1	Cinnamon	LED azul
	T2	Grecco a Palla	LED azul
	T3	Italian Large Leaf	LED azul
	T4	Limoncino	LED azul
	T5	Maria Bonita	LED azul
4	T1	Cinnamon	LED verde
	T2	Grecco a Palla	LED verde
	T3	Italian Large Leaf	LED verde
	T4	Limoncino	LED verde
	T5	Maria Bonita	LED verde
5	T1	Cinnamon	LED vermelho
	T2	Grecco a Palla	LED vermelho
	T3	Italian Large Leaf	LED vermelho
	T4	Limoncino	LED vermelho
	T5	Maria Bonita	LED vermelho

Quadro 1: Tratamentos utilizados para estabelecimento *in vitro* de manjeriço (*Ocimum basilicum*) sob lâmpadas brancas fluorescentes brancas e LEDs amarelo, azul, verde e vermelho Uberlândia – MG, 2020.



Aos 60 dias após inoculação dos segmentos nodais foram avaliadas as seguintes características: número de folhas, de brotos, comprimento da parte aérea (cm), massa fresca e seca (g) das plântulas desenvolvidas além do teor de clorofila através de clorofilômetro e porcentagem de plântulas com hiperhidricidade a partir da escala (Anexos - figura 13). O teor de clorofila foi medido pelo aparelho SPAD 502 - Soil Plant Analysis Development (Minolta, 1989) que gera grandezas adimensionais relacionadas aos teores de clorofila -.

Os dados obtidos em todos os experimentos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa estatístico Sisvar 4.3 (FERREIRA, 2014). Através do programa estatístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) foram testadas e atendidas as pressuposições de normalidade dos resíduos, homogeneidade das variâncias e aditividade de blocos, com os testes de Shapiro-Wilk, Levene e Tukey a  $\alpha = 0,01$  de significância respectivamente (IBM, 2013).

Realizou-se também a análise conjunta dos experimentos através do programa estatístico Genes com posterior comparação pelo teste médias Tukey a 5% de probabilidade (CRUZ, 2006).

### **Uso de lâmpadas LED azul e LED Growlux em cultivares de manjeriço**

Neste ensaio também instalado de maneira similar aos anteriores, os segmentos nodais de manjeriço das cultivares Cinnamon, Grecco a Palla e Limoncino foram inoculadas em frascos de vidro contendo 30 mL de meio de cultura MS 50%. Essas cultivares foram escolhidas pois foram as que se adaptaram ao cultivo *in vitro* no experimento anterior. Em seguida, os frascos foram colocados na sala de crescimento sob duas condições luminosas com lâmpadas LED azul testada no primeiro experimento e LED Growlux recomendada para cultivo vegetal (Quadro 2)

<b>Experimento</b>	<b>Tratamentos</b>	<b>Cultivar</b>	<b>Lâmpada</b>
1	T1	Cinnamon	LED azul
	T2	Grecco a Palla	LED azul
	T3	Limoncino	LED Azul
2	T1	Cinnamon	LED Growlux
	T2	Grecco a Palla	LED Growlux
	T3	Limoncino	LED Growlux

Quadro 2: Tratamentos utilizados para estabelecimento *in vitro* de manjeriço (*Ocimum basilicum*) Uberlândia – MG, 2020.

Foram realizados dois experimentos independentes para análise estatística conjunta em virtude da dificuldade de casualização das lâmpadas (Anexos -figura 14). O delineamento experimental de cada experimento independente foi de blocos casualizados (DBC) com três tratamentos e seis blocos. Cada parcela experimental foi constituída de cinco frascos sendo que cada frasco continha cinco explantes.

Aos 60 dias após inoculação dos segmentos nodais foram avaliados as seguintes características: número de folhas, número de brotos, comprimento da parte aérea e radicular (cm), massa fresca e seca (g) das plântulas desenvolvidas e teor de clorofila.

Os dados obtidos em todos os experimentos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa estatístico Sisvar 4.3 (FERREIRA, 2014). Através do programa SPSS foram testadas e atendidas as pressuposições de normalidade dos resíduos, homogeneidade das variâncias e aditividade de blocos, com os testes de Shapiro-Wilk, Levene e Tukey a  $\alpha = 0,01$  de significância respectivamente (IBM, 2013).

Realizou-se também a análise conjunta dos experimentos através do programa estatístico Genes (CRUZ, 2006) com posterior comparação pelo teste médias Tukey a 5% de probabilidade.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Uso de lâmpadas fluorescentes e LEDs em cultivares de manjeriço**

Através do resumo da análise de variância conjunta dos cinco experimentos independentes observou-se que não houve interações estatísticas entre os fatores de variação. A maioria das características avaliadas nas cultivares de manjeriço *in vitro* não diferiram entre si, exceto apenas para a característica comprimento de parte aérea. Entretanto, foi possível verificar que as lâmpadas testadas no cultivo *in vitro* de manjeriço provocaram diferenças quanto ao número de folhas, comprimento de parte aérea, massa fresca e seca e valor de teor de clorofila (Anexo 3).

O número de folhas (FOL) e de brotos (NBR) produzidos pelas cultivares de manjeriço estudadas não diferiram, porém, as plantas da cultivar Italian Large Leaf cresceram menos a parte aérea (AER) que as plantas da cultivar Limoncino (Tabela 5). A Italian Large Leaf quando cultivada *ex vitro* apresenta altura entre 40 a 60 cm sendo maior que as demais cultivares, isso demonstra a plasticidade fenotípica dessa cultivar. A plasticidade fenotípica é capacidade dos organismos de alterar a sua fisiologia ou morfologia de acordo com as condições do ambiente. Também pode ser definida como a habilidade de um genótipo de produzir mais de um fenótipo quando exposto a diferentes tipos de ambientes (LIMA-BRITO et al.,2016).

Outro indício de plasticidade fenotípica é quanto a característica número de folhas pois quando em condições normais *ex vitro*, a cultivar Grecco a Palla apresenta nitidamente mais folhas que as demais cultivares testadas. Nesse experimento *in vitro* porém, o número de folhas da cultivar Grecco a Palla foi estatisticamente igual ao das demais. A massa fresca, seca e teor de clorofila das diferentes cultivares testadas não diferiram entre si nos ambientes luminosos utilizados.

Tabela 5 :Número de folhas (FOL), número de brotos (NBR), comprimento (cm) de parte aérea (AER), massa fresca (MFR), massa seca (MSE), porcentagem de plantas com hiperhidricidade (HIP) e teor de clorofila (SPD) de plântulas de cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum*). *in vitro*, Uberlândia-MG, 2020.

Cultivar	FOL	NBR	AER	MFR	MSE	SPD	HIP
Cinnamon	4,242 a	1,788 a	1,482 ab	0,11782 a	0,01578 a	5,20 a	20,00 a
Grecco P.	8,650 a	1,815 a	1,845 ab	0,20048 a	0,01754 a	8,20 a	17,00 a
Italian L.	3,766 a	1,734 a	1,205 b	0,18648 a	0,18648 a	13,72 a	26,00 a
Limoncino	5,083 a	1,759 a	2,689 a	0,25028 a	0,25028 a	14,80 a	27,00 a
Maria B.	6,125 a	2,046 a	1,294 ab	0,43378 a	0,43378 a	13,54 a	18,00 a

<sup>1</sup>médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância;

A respeito do tipo de lâmpada, identificou-se que o número de folhas das plantas cultivadas em lâmpada LED azul foi superior ao de fluorescente (Tabela 6). As fluorescentes branca são comumente utilizadas em salas de crescimento de laboratórios de cultura de tecidos vegetal, porém as lâmpadas LEDs consomem menos energia e aquecem menos o ambiente da sala de crescimento considerando ambas de mesma potência.

Tabela 6: Número de folhas (FOL), número de brotos (NBR), comprimento de parte aérea (AER), massa fresca (MFR), massa seca (MSE), porcentagem de plantas com hiperhidricidade (HIP) e teor de clorofila (SPD) de plântulas de cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum*)

Lâmpada	FOL	NBR	AER	MFR	MSE	SPD	HIP
Amarela	5,04b	1,74a	1,44ab	0,22ab	0,018ab	10,32b	30,00 b
Azul	9,38a	1,70a	2,74a	0,26ab	0,022ab	13,84a	16,00 a
Vermelha	4,50b	1,60a	1,32b	0,29a	0,026a	9,98b	26,00 ab
Verde	6,40b	1,74a	1,86ab	0,16b	0,016b	10,62b	27,00 ab
Fluorescente	5,64b	2,04a	1,7ab	0,25ab	0,022ab	10,70ab	15,00 a

<sup>1</sup>médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

Quanto aos brotos formados verificou-se que o tipo de luz não interferiu na quantidade dos mesmos, porém interferiu no comprimento desses brotos (AER). A luz LED azul propiciou a formação de plantas *in vitro* maiores que as LEDs vermelhas. Essa característica poderia ser entendida como um estiolamento das plantas em função de menor qualidade de luz, entretanto essas plantas maiores também apresentaram maior quantidade de folhas, teor de clorofila além de menor porcentagem de plantas com hiperhidricidade (Tabela 6).

A espécie *Salvia* sp, que também é uma aromática da família Lamiaceae, quando testada sob diferentes cores de lâmpadas apresentou maiores comprimentos de parte aérea no cultivo em ambiente de LEDs vermelhas e menores quando sob luz 50% vermelho e 50% azul (WOLLAEGER e RUNKLE, 2014). Isso reafirma a singularidade de cada

espécie e a necessidade de se testar o tipo de luz para cada espécie antes de se investir em determinada tecnologia.

Além disso, verificou-se que a massa fresca e seca produzidas pelas plantas de manjeriço foi maior sob LEDs vermelhos do que verde, porém há espécies da família Lamiaceae que a combinação de comprimentos de onda na faixa do verde, vermelho e azul foi positivo (WOLLAEGER e RUNKLE, 2014).

A incidência de plântulas com aspectos anormais de hiperhidricidade como deformação, desproporcionalidade, perfilhamento, princípio de oxidação ou necrose foram percebidas no geral durante a condução do experimento, entretanto não foi verificada diferença estatística entre cultivares, mas sim entre tipos de lâmpadas (Tabela 5 e 6).

Vasconcelos et al. (2004) relataram que esses tipos de desordem morfológicas e fisiológicas podem atingir até 60 % de brotos micropropagados em virtude do elevado teor de água no interior das células e tecidos.

As plantas cultivadas sob lâmpadas amarelas apresentaram menor produção de folhas, comprimento de parte aérea, massa fresca, teor de clorofila além de maior porcentagem de plantas com hiperhidricidade. Ainda que o fluxo luminoso da mesma seja tecnicamente o mesmo das demais LEDs coloridas, ela não emite uma luz de qualidade suficiente para o desenvolvimento de manjeriço *in vitro*.

### **Uso de lâmpadas LED azul e LED Growlux em cultivares de manjeriço**

Através do resumo da análise de variância conjunta dos dois experimentos (Anexo 4), observou-se que apenas a característica comprimento radicular (RAD) dentre as sete características avaliadas nas cultivares de manjeriço não diferiram entre si. As cultivares foram diferentes apenas quanto ao número de folhas (FOL) e teor de clorofila (SPD) enquanto que os ambientes luminosos testados provocaram diferença apenas quanto ao número de folhas (FOL) e massa fresca (MFR) e seca (MSE) produzida. Foi identificado interação entre os fatores para as características número de brotos (NBR) e comprimento de parte aérea (AER).

As características biométricas avaliadas nas plantas de manjeriço demonstraram que a quantidade de folhas, massa fresca e massa seca produzidas na condição luminosa de lâmpadas Growlux foi superior do que em cultivo com LEDs azuis (Tabela 7 e 8). As

lâmpadas Growlux são compostas por feixes de luz azul (460nm) e vermelho (660nm), que são justamente as faixas mais favoráveis à fotossíntese e portanto contribuíram para o melhor desenvolvimento das plantas de maneira geral.

As características das plantas cultivadas em ambientes Growlux quando não foram melhores foram pelo menos iguais às das cultivadas em ambientes de LEDs azul para número de folhas, de broto, comprimento de parte aérea e massa fresca e seca.

A faixa de comprimento existente nas lâmpadas Growlux que não está presente nas LEDs azuis também pode provocar maior diâmetro de plantas e área foliar que foram características não avaliadas e que provavelmente contribuiriam para confirmar a vantagem oferecida por esse tipo de LED.

Tabela 7: Número de folhas (FOL), brotos (NBR) e comprimento de parte aérea (AER) em manjeriço (*Ocimum basilicum*) *in vitro* sob dois ambientes luminosos. Uberlândia-MG, 2020.

Cultivares	FOL		NBR		AER	
	Azul	Growlux	Azul	Growlux	Azul	Growlux
Cinnamon	8,27 Ba	18,72 Aab	1,22 Aa	2,35 Ab	2,46 Aa	3,36 Ab
G. Palla	11,70Ba	23,77 Aa	1,92 Ba	5,07 Aa	2,67 Aa	2,56 Ab
Limoncino	8,20 Ba	13,90 Ab	1,52 Aa	2,12 Ab	1,79 Ba	4,88 Aa

<sup>1</sup>médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância

A cultivar Grecco a Palla na condição luminosa de Growlux apresentou maior quantidade de folha e de brotos que Limoncino, entretanto Limoncino apresentou maior quantidade de clorofila que Grecco a Palla (Tabela 7 e 8). Esse padrão de resposta acompanha a tendência da mesma quando cultivada *ex vitro* e a torna uma opção indicada ao uso ornamental em vasos (FRANÇA et al., 2017).

Tabela 8: Tamanho de raiz (RAD), massa fresca (MFR), massa seca (MSE) e teor de clorofila (SPD), em manjeriço (*Ocimum basilicum*) *in vitro* sob dois ambientes luminosos. Uberlândia-MG, 2020.

Cultivares	RAD		MFR		MSE		SPD	
	Azul	Growlux	Azul	Growlux	Azul	Growlux	Azul	Growlux
Cinnamon	2,571	4,875	0,326 B	0,956 A	0,108B	0,220A	17,14 a	17,01 ab

G. Palla	3,442	4,712	0,370 B	1,144 A	0,080B	0,260A	8,84 b	11,75 b
Limoncino	3,271	3,219	0,396 B	1,105 A	0,119B	0,212A	17,29 a	20,81 a

<sup>1</sup>médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

Enquanto isso, a cultivar Limoncino quando apresentou diferença, produziu poucas folhas e brotos em cultivo Growlux porém brotos grandes que também é uma característica verificada *ex vitro* nessa cultivar em outro ensaio desse trabalho. Além disso, verificou-se que a cultivar Limoncino apresenta maior teor de clorofila que a cultivar Grecco a Palla nas duas condições luminosas (Tabela 8).

O comprimento radicular das plantas não diferiu, isso pode ser explicado porque os efeitos de variação testados não interferiram em raízes diretamente, interferem principalmente na parte fotossintética das plantas pois apresentam pigmentos sensíveis a luz (Anexos -figura 10).

## CONCLUSÃO

Conclui-se que a lâmpadas LED amarela não oferecem condições luminosas suficientes para produção de manjeriço *in vitro*.

A condição luminosa de lâmpadas Growlux possibilita a produção *in vitro* de maior quantidade de folhas, massa fresca e seca para as cultivares Cinnamon, Grecco a Palla e Limoncino.

## REFERÊNCIAS

AL ABBASY, D. W.; PATHARE, N.; AL SABAHI, J. N.; KHAN, S. A. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil isolated from Omani basil (*Ocimum basilicum* L.). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**. Singapore, v.5, p. 645-649, 2015. DOI: [https://doi.org/doi.org/10.1016/S2222-1808\(15\)60905-7](https://doi.org/doi.org/10.1016/S2222-1808(15)60905-7).

LIMA-BRITO, A.; ALBUQUERQUE, M. M. S.; RESENDE, S. V.; CARNEIRO, C. E.; SANTANA, J. R. F. Rustificação *in vitro* em diferentes ambientes e aclimatização de microplantas de *Comanthera mucugensis* Giul. subsp. *Mucugensis*. **Revista Ciência Agrônômica**, Jaboticabal, v. 47, n. 1, p. 152-161, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/1806-6690.20160018>.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2004. 480p.

CRUZ, C. D. **Programa Genes**: biometria. Editora UFV. Viçosa (MG). 382p. 2006.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>.

FRANÇA, M. F. M. S.; VILELA, M. S.; COSTA, A. P.; NOGUEIRA, I.; PIRES, M. C.; SOUZA, N. O. S. Germination test and ornamental potential of different basil cultivars (*Ocimum basilicum*). **Ornamental Horticulture**, Viçosa, v. 23, n. 4, p. 385-391, 2017.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.14295/oh.v23i4.1080>.

IBM Corp. **IBM SPSS Statistics for Windows**, Version 22,0. Armonk, K.Y.: IBM Corp, 2013.

JESSEN, N. B.; CLAUSEN, M. R.; KAER, K. H. Spectral quality of supplemental LED grow light permanently alters stomatal functioning and chilling tolerance in basil (*Ocimum basilicum* L.). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 227, n. 3, p. 38-47, 2018.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.09.011>.

MEAN WELL, 2020. Disponível em:<http://www.meanwell.eu/productSeries.aspx#>  
Acesso em 21/12/2019.

MINOLTA. **Chlorophyll meter SPAD-502. Instruction manual**. Minolta Co., Osaka, Japan. 22 pp., 1989.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Plant Physiology**, Rockville, v. 15, p. 473-97, 1962. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.



SANTOS, D. **Teses de fotossínteses.** 2013. Disponível em: <https://djalmasantos.wordpress.com/2011/02/12/testes-de-fotossintese-13/>. Acesso em 18 dez. 2019.

SHOHAEL, A.; ALI, M.; YU, K.; HAHN, E.; ISLAM, R.; PAEK, K. Efeito da luz sobre o estresse oxidativo, metabólitos secundários e indução de enzimas antioxidantes em embriões somáticos de *Eleutherococcus senticosus* em biorreatores. **Process Biochemistry**, London, n. 41, p. 1179 – 1185, 2016.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>.

TRENTO, S. M. **Hiperidricidade, luz e reguladores de crescimento no cultivo *in vitro* de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.).** 2017, 64p. Dissertação (Mestrado em agronomia). Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia.

DOI: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2017.227>.

VASCONCELOS, A. G. V; TOMAS, L. F.; CAMARA, T. R.; WILLADINO, L, Hyperhydricity: A metabolic disorder. **Ciência Rural**, Porto Alegre, n. 42, v. 5, p. 837-844, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782012000500013>.

YUE, W.; MING, Q.; LIN, B.; RAHMAN, K.; ZHENG, C. J.; HAN, T. L. Culturas de suspensão de células de plantas medicinais: aplicações farmacêuticas e estratégias de alto rendimento para os metabólitos secundários desejados. **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton, n. 36, p. 215 – 232, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2008000400022>.

WOLLAEGER, H. M.; RUNKLE, E. S. Growth of Impatiens, Petunia, Salvia, and Tomato Seedlings under Blue, Green, and Red Light-emitting Diodes. **HortScience**. Alexandria, v. 49, p. 734-740. 2014.

DOI: <http://dx.doi.org/10.21273/HORTSCI.49.6.73>.

## CAPÍTULO 4

### Cultivares de manjeriço em vasos e o óleo essencial

#### RESUMO

OLIVEIRA, RAYSSA CAMARGO. **Cultivares de manjeriço em vasos e o óleo essencial** 2020. 90p. Tese (Doutorado em Agronomia/ Fitotecnia) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

Conhecer as características de uma espécie aromáticas permite usufruir dos vários componentes que cada uma pode conter. Um dos possíveis componentes são os óleos essenciais que apresentam composição e quantidade variável segundo cada genótipo e também condições ambientais de cultivo. A cultura de tecido permite o controle das condições de cultivo e por isso é uma ferramenta capaz de auxiliar estudos nesse contexto. O objetivo deste trabalho foi conhecer as características biométricas das plantas e a composição química do óleo essencial das cultivares de manjeriço. Ao final foram avaliadas as características comprimento da parte aérea, diâmetro da copa, massa fresca, massa seca, teor de água, teor de clorofila, área foliar além da composição e quantidades dos óleos essenciais. As cultivares Limoncino e Anise produziram plantas mais altas e com maior diâmetro de copa enquanto que as plantas de Cinnamon produziram maior quantidade de massa seca, teor de água e clorofila. A cultivar Anise apresentou como composto majoritário Metil chavicol (66,98%), a Cinnamon Metil cinamato e Linalol (26,95% e 23,44%) e a Italian Large Leaf o composto Linalol (41,91%).

Palavras-chave: *Ocimum basilicum*. Cultivo *in vitro*. Cultivo em vasos. Cultivares. Óleo essencial.

### Basil cultivars in pots and the essential oil

#### ABSTRACT

Knowing the characteristics of an aromatic species allows you to take advantage of the various components that each can contain. One of the possible components are essential oils that vary in composition and quantity according to each genotype and also environmental cultivation conditions. Tissue culture allows the control of culture conditions and is therefore a tool capable of assisting studies in this context. The objective of this work was to know the biometric characteristics of the plants and the composition of the essential oil of the cultivars of basil. At the end, the characteristics of shoot length, crown diameter, fresh weight, dry weight, water content, Spad index, leaf area in addition to the composition and quantities of essential oils were evaluated. The cultivars Limoncino and Anise produced taller plants with a larger canopy diameter, while Cinnamon plants produced a greater amount of dry matter, water content and chlorophyll. The cultivar Anise presented as the major compound Methyl chavicol (66.98%), Cinnamon Methyl cinnamate and Linalol (26.95% and 23.44%) and Italian Large Leaf the compound Linalol (41.91%).

**Keywords:** *In vitro* cultivation. Planting in pot. Cultivars. Essential oil.

'Orientador: José Magno Queiroz Luz- UFU

## INTRODUÇÃO

O gênero *Ocimum* abrange aproximadamente trinta espécies que estão dispersas nas regiões tropicais e subtropicais da Ásia, África, Américas Central e do Sul, sendo a África considerada o principal centro de diversidade desse gênero (PEREIRA e MOREIRA, 2011).

As espécies desse gênero são autógamas com potencial medicinal, aromático e de especiarias, cultivada através de sementes e estacas principalmente (Anexos -figura 15). Apresenta flores hermafrodita, porém pode haver polinização cruzada entre diferentes tipos ou variedades, principalmente pela atividade das abelhas (BLANK et al., 2015).

Este gênero tem despertado a atenção de pesquisadores por apresentar espécies que são fontes de óleos essenciais com mais de vinte componentes, entre eles metil-chavicol, metil-cinamato, eugenol, citral, linalol, timol, estragol, geraniol, calareno, cânfora e taninos (SILVA et al., 2017).

A espécie *Ocimum basilicum*, comumente conhecida como Manjeriçãõ tem como principal local de dispersãõ a África, porãem existem tambãem indícios de sua disseminaçãõ ter começado na Ásia (LEÃO et al., 2013). Adaptou-se muito bem ao clima do Brasil, podendo ser cultivado durante todo o ano, sendo assim uma importante cultura aromática comercial (VELOSO, 2014).

A atual revalorizaçãõ das plantas medicinais levou ao aumento da demanda da identificaçãõ dos subprodutos e ingredientes ativos e consequentemente a intensificaçãõ do comãrcio dessas plantas. Assim, deve ser dada prioridade ao estudo e conservaçãõ dessas espãcies (PARKASH e SINGH, 2013).

De acordo com a informaçãõ disponibilizada pelo Sindicato da Indústria de Produtos Farmacêuticos - Sindusfarma (2015), as indústrias farmacêuticas investem pelo menos R\$ 332 milhões em pesquisas em desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos, ampliando de 3% para 15% a participaçãõ do segmento. Além disso, a produçãõ de espãcies aromáticas como o manjeriçãõ é motivada pelo uso do seu óleo no controle de pragas agrícola como grãos armazenados (ORTIZ et al., 2013), ácaro (CAMPOS et al., 2018) e larvas (POPOVIC et al., 2013; SILVA et al., 2017).

Dessa forma é necessãrio testar maneiras de se obter uma produtividade que supra a demanda do mercado nacional com produtos de concentrações, quantidade e qualidade desejãveis de óleos essenciais. Para isso, uma alternativa seria estudar os efeitos diferentes formas de cultivo como *in vitro* e em vaso.

## OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho foi estudar biometria *ex vitro* e óleo essencial de plantas de cultivares de manjeriçãõ oriundas de mudas micropropagadas e aclimatizadas.

### Objetivos específicos

Avaliar as características biométricas e fisiológicas das plantas de cultivares de manjeriçãõ na condiçãõ *ex-vitro*.

Destilar e realizar a análise química da composiçãõ das cultivares de manjeriçãõ.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), no período de janeiro a outubro de 2019. Utilizou-se sementes de manjeriço (*Ocimum basilicum*) das cultivares: Anise, Cinnamon, Italian Large Leaf, Limoncino e Maria Bonita oriundas da empresa Richters Herbs.

As sementes foram desinfestadas em álcool 70% durante um minuto e em solução de hipoclorito de sódio 30% por vinte minutos. Em seguida, em câmara de fluxo laminar foram lavadas três vezes com água destilada e autoclavada.

Após isso, as sementes foram inoculadas em frascos de vidro transparentes 200 mL contendo 30 mL de meio de cultura MS 50% e os frascos foram colocados na sala de crescimento sob condição luminosa de lâmpadas brancas fluorescentes com fotoperíodo de 16 horas de luz.

As mudas de manjeriço produzidas *in vitro* por segmento nodal foram avaliadas quanto a porcentagem de hiperhidricidade e as consideradas fisiologicamente normais foram transplantadas para bandejas de poliestireno expandido com 128 células aos 60 dias após a inoculação. As bandejas foram inicialmente colocadas dentro de uma caixa plástica transparente para manutenção da umidade e mantidas no ambiente da sala de crescimento. Após 5 dias as tampas das caixas foram posicionadas entreabertas para promover trocas gasosas sem deixar ressecar e após 5 dias as caixas foram levadas para ambiente sombreado com a tampa entreaberta.

Aos 30 dias após a semeadura fez-se o transplante de trios de mudas para os vasos (11,8 cm diâmetro x 8,6 cm diâmetro x 9,0 cm de altura) contendo substrato, a fim de se produzir maior quantidade de material vegetal e possibilitar a extração de óleo essencial (Anexos - figura 16). O substrato para o cultivo das plantas em vaso foi composto, em partes iguais, por esterco bovino curtido, substrato comercial Plantimax® e areia.

Nesta fase de cultivo os vasos com plantas receberam de 14 em 14 dias a solução nutritiva de Hoagland (HOAGLAND et al., 1938). A irrigação foi realizada diariamente até atingir a capacidade de campo. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Aw – clima tropical com estação seca de inverno. As plantas daninhas foram controladas por arranquio e o monitoramento de pragas e doenças foi realizado diariamente.

Aos 30 dias após o transplante teve início as avaliações não destrutivas como a medida do comprimento do caule das plantas da base até o ápice e também da intensidade do verde nas folhas, sendo aferida pelo do medidor portátil de clorofila SPAD-502

(SoilPlant Analysis Development) na terceira ou quarta folha madura e completamente expandida, a partir do ápice de cada planta.

Para determinação da massa fresca, foi realizado o corte de toda a parte aérea a uma distância de 15 cm do solo, incluindo flores e folhas e em seguida as plantas foram pesadas em fresco e acondicionadas em saco de papel individualmente (Anexos -figura 17). Os sacos de papel foram colocados em estufa a 40°C por um período de 72 horas, até a estabilização da massa seca. Essa temperatura foi adotada pois acima desse limite o óleo essencial volatiliza e, portanto, parte do conteúdo poderia ser perdido. Após a massa seca estabilizar, o peso de cada planta foi aferido individualmente em balança analítica de precisão.

A área foliar foi determinada na terceira folha completamente expandida a partir do ápice em direção a base através do aplicativo Easy leaf area free - Heaslon (Anexos - figura 18) (KARSTON et al., 2019).

As amostras de folhas foram secas utilizadas para a extração dos óleos essenciais através da hidrodestilação em aparelho Clevenger modificado. Cada extração foi realizada em triplicata, utilizando-se 30 g de folhas secas e 1,5 L de água destilada por 140 min. Os óleos essenciais foram armazenados em frascos âmbar a -20°C até a análise. A seguinte equação foi usada para calcular o teor de óleo essencial de cada amostra:

$$Teor (\%) = \left( \frac{\text{volume de óleo essencial extraído de cada amostra}}{\text{massa seca de cada amostra}} \right) \times 100$$

Análises da composição química dos óleos essenciais foram realizadas em um equipamento CG-EM/DIC (QP2010 Ultra, Shimadzu Corporation®, Kyoto, Japão), equipado com um amostrador com injeção automática AOC-20i (Shimadzu®). As separações foram realizadas em uma coluna capilar de sílica fundida Rtx®-5MS Restek (5%-difenil-95%-dimetilpolissiloxano) com 30 m x 0,25 mm de diâmetro interno (d.i.), 0,25 mm de espessura de filme, a um fluxo constante de hélio (99,999%) com taxa de 1,2 mL/min. Injetou-se um volume de 0,5 µL (5 mg/mL) da amostra a 280°C com uma razão de split de 1:10. A temperatura do forno variou de 50-300°C (50°C por 1,5 min, com um aumento de 4°C/min até 200°C, seguido por um aumento de 10°C min até 300°C, isotérmico por 5 min).

Os dados de EM e DIC foram adquiridos simultaneamente utilizando um Sistema de Detecção de Partição, a relação de fluxo foi de 4: 1 (EM: DIC). Um tubo restritivo

(coluna capilar; 0,62 m × 0,15 mm d.i) foi utilizado para conectar o divisor ao detector de EM, e um restritor (0,74 m × 0,2 mm d.i.) foi utilizado para conectar o divisor ao detector DIC. Os dados de EM (CIT, cromatograma de íons totais) foram adquiridos no modo de varredura completa (m/z de 40–350) a uma velocidade de varredura de 0,3 fragmentos s/s usando ionização eletrônica (IE) com uma energia de elétrons de 70 eV. A temperatura do injetor foi de 250°C, a temperatura da fonte de íons foi de 250°C e a temperatura do DIC foi 250°C. Os suprimentos de gás para o DIC foram hidrogênio (30 mL/min), ar (300 mL/min) e hélio (30 mL/min). A quantificação de cada constituinte foi estimada pela normalização da área de pico do DIC (%). As concentrações dos compostos foram calculadas a partir das áreas dos picos do CG e foram organizadas por ordem de eluição do CG.

Os compostos dos óleos essenciais foram identificados comparando-se os índices de retenção da literatura e os índices de retenção observados. O índice de retenção foi calculado por meio da equação de Van den Dool e Kratz. em relação a uma série homóloga de n-alcenos (nC9-nC18). Foram utilizadas três bibliotecas do equipamento (WILEY8, NIST107 e NIST21), que permitiram a comparação entre os dados dos espectros obtidos com os das bibliotecas, com um índice de similaridade de 80% (ADAMS, 2007).

Os dados de resultados foram submetidos à análise de variância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade no programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2014) para análise dos dados. As pressuposições de homogeneidade das variâncias, normalidades dos resíduos e aditividade de blocos foram testadas através do programa estatístico SPSS - Statistical Package for the Social Sciences (IBM, 2013) pelos testes de Levene, Shapiro Wilk, e Tukey respectivamente.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Através do resumo da análise de variância do experimento (Anexo 5), observou-se que o comprimento de parte aérea (AER), diâmetro da copa (COP), massa seca (MSE), teor de água (TAG), teor de clorofila (SPD) e área foliar (AFO) das plantas de manjeriço foram diferentes segundo cada cultivar, enquanto que a massa fresca foi estatisticamente igual para todas cultivares. Todas as pressuposições foram atendidas sem necessidade de transformações de dados.

Como as cultivares Maria Bonita e Grecco a Palla apresentaram altas porcentagens de plantas com hiperhidricidade e assim não foi possível transplantá-las para vasos.

As plantas da cultivar Cinnamon apresentaram menor comprimento de parte aérea e diâmetro de copa do que as cultivares Limoncino e Anise, essas plantas de Cinnamon se destacaram quanto a massa seca, teor de água e clorofila (Spad). Isso demonstra que enquanto as outras cultivares: Limoncino e Anise investiram na formação de plantas mais altas e frondosas para captar maior quantidade de luz para fotossíntese, as plantas da cultivar Cinnamon produziram plantas mais baixas, porém com uma expressiva quantidade de clorofila o que compensaria o menor tamanho (Tabela 9).

Tabela 9: Comprimento da parte aérea (AER), diâmetro da copa (COP), massa fresca (MFR), massa seca (MSE), teor de água (TAG), teor de clorofila (SPD) e área foliar (AFO) das quatro cultivares de *Ocimum basilicum* em vasos, Uberlândia-MG, 2020.

Cultivar	AER	COP	MFR	MSE	TAG	SPD	AFO
Cinnamon	42,00b <sup>1</sup>	33,41b	80,27	18,83a	23,84a	35,92a	8,09a
Italian L.	44,31ab	39,00ab	66,56	13,87b	20,97b	29,98ab	7,88a
Limoncino	48,54a	45,90a	90,67	14,43b	16,52c	27,97ab	8,46a
Anise	45,75a	42,69a	96,21	15,30ab	15,89c	25,74b	5,56b

<sup>1</sup>médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

Anise apresentou a menor área foliar comparativamente, o que é compensada pelo tamanho da parte aérea da planta e também o diâmetro da copa e é possível notar a diversidade dos tamanhos e formatos de folhas das cultivares de manjericão (Anexos figura 19). Algumas características foram notadas quanto ao formato e tamanho das folhas das cultivares de manjericão. A cultivar Maria Bonita apresentou folhas com pecíolo mais alongado que as demais, Cinnamon se destacou pelas bordas das folhas serradas, Italian Large Leaf apresentou maior área foliar, porém com crescimento côncavo provocado pelo menor crescimento da nervura central.

Além disso, verificou-se que Grecco a Palla apresentou folhas comparativamente pequenas e em quantidade que resulta em um aspecto denso e globular na arquitetura da planta. As cultivar Anise e Limoncino apresentaram folhas de tamanhos similares, porém as bordas das folhas de Limoncino são mais serradas.



A respeito da composição do óleo essencial, a cultivar Anise apresentou como composto majoritário o Metil chavicol (66,98%), enquanto que a cultivar Cinnamon o Metil cinamato (26,95%) e Linalol (23,44%). Já a cultivar Italian Large Leaf apresentou como majoritário os álcoois 1,8-Cineol e Linalol. Resultados semelhantes das porcentagens de majoritários foram encontrados em Anise e Italian Large Leaf por Pinto et al (2019) que estudou e dividiu em dendograma 24 cultivares de manjeriço. A cultivar Cinnamon se destacou frente as demais pelo teor de óleo essencial de 1,41% extraído das folhas secas enquanto que as demais produziram apenas metade, ou seja, uma média de 0,75%.

Os compostos majoritários Linalol, Metil cinamato e Metil chavicol das três cultivares estudadas respectivamente também ocorreram em outros estudos com manjeriço (PINTO et al., 2019) (COSTA et al., 2015).

Tabela 10: Teor de óleo porcentagens dos componentes majoritários: 1,8 -Cineol, Linalol, Metil chavicol, Metil cinamato, Cadinol de três cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum*) cultivadas em vasos, Uberlândia-MG, 2020.

Cultivar	Cineol	Linalol	Metil chavicol	Metil cinamato	Cadinol	% óleo
Anise	5,74 b	1,66 c	66,98 a	0,354 b	5,60 c	0.72 b
Cinnamon	1,27 c	23,44 b	7,60 b	26,95 a	8,36 a	1.41 a
Italian L. L	7,17 a	41,91 a	1,12 c	0,911b	6.97 b	0,77 b

médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

O Linalol presente em algumas cultivares é considerado uma das substâncias mais importantes na indústria farmacêutica e de cosméticos e vem sendo utilizado como fixador de fragrâncias. O consumo anual desse composto químico pode chegar até 100 toneladas e aproximadamente 70 % dos compostos produzidos por essas indústrias contêm Linalol em sua fórmula; os produtos e perfumes mais refinados utilizam somente o Linalol natural (CAMARGO et al., 2014).

O metil-chavicol é conhecido quimicamente como 1-metoxi-4-prop-2-enilbenzeno, estragol ou p-alilanisol, é um metabólito especial pertencente à classe dos fenilpropanóides encontrados em óleos essenciais de plantas medicinais. Esse composto é importante pois é antioxidante e bloqueia os canais de sódio transmembranares que são

ativados por alterações de diferença de potencial eléctrico o que confere propriedades medicinais e inseticida (SANTOS et al., 2018).

O Metil-cinamato é encontrado em diversas plantas, como manjeriço, morangos e eucalipto. O cinamato de metila é usado como aromatizante e fragrância, com um cheiro a canela e morango e é investigado a respeito do efeito no escurecimento de alimentos (HUANG et al., 2009).

## CONCLUSÃO

As cultivares Limoncino e Anise produziram plantas mais altas e com maior diâmetro de copa enquanto que Cinnamon produziu maior quantidade de massa seca, teor de água e clorofila. A cultivar Anise apresentou como composto majoritário Metil chavicol (66,98%), Cinnamon Metil cinamato e Linalol (26,95% e 23,44%) e Italian Large Leaf o composto Linalol (41,91%).

## REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography / mass spectroscopy. **Publisher Allured Publishing Corporation**, Carol Stream, USA, 2007.

BLANK, A. F.; SANTANA, A. D. D.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; ANDRADE, T. M.; PINTO, J. A. O.; NASCIMENTO JÚNIOR, A. F.; LUZ, J. F. Q. 'Norine', a cinnamom-linalool hybrid cultivar of basil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 15, n. 4, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1984-70332015v15n4c48>.

CAMARGO, S. B.; VASCONCELOS, D. F. S. A. Atividades biológicas de Linalol: conceitos atuais e possibilidades futuras deste monoterpene. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 13, n. 3, p. 381-387, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.9771/cmbio.v13i3.12949>.

CAMPO, D. R.; SANTOS, R. R. dos; GUIMARAES, B. G.; ALMEIDA, D. C. C. Atividade acaricida *in vitro* do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* sobre larvas de

*Rhipicephalus sanguineus*. II In. Congresso Latinoamericano de Acarologia, Pirenópolis, **Anais...** 2018.

COSTA, A. S.; ARRIGONI-BLANK, M. de F.; CARVALHO FILHO, J. L. S. de; de SANTANA, A. D. D.; SANTOS, D. de A.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F. Chemical Diversity in Basil (*Ocimum* sp.) Germplasm. **The Scientific World Journal**, Boynton Beach, p. 1-9, 2015. DOI: <https://doi.org/doi:10.1155/2015/352638>.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>.

GARLET, T. M. B. **Produtividade, teor e composição do óleo essencial de espécies de *Mentha* L. (Lamiaceae) cultivada em hidroponia com variação de potássio**. 2007, 112 f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

HEALSON. Aplicativo Easy leaf area free 2015.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. **California Agricultural Experimental Station**. Circ. n.347, 1938. DOI: <http://hdl.handle.net/2027/uc2.ark:/13960/t51g1sb8j>.

HUANG, Q. S.; ZHU, Y. J.; LIANG LI, H.; ZHUANG, J. X.; ZHANG, C. L.; ZHOU, J. J.; GANG LI, W.; CHEN, Q. X. Inhibitory effects of methyl trans-cinnamate on mushroom tyrosinase and its antimicrobial activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, p. 3-25, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf8036227>.

IBM Corp. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22,0. Armonk, K.Y.: IBM Corp, 2013.

KARSTEN, J.; SOUZA, S. R.; PELISSARI, K. P.; BRITO, J. F. S. Métodos de estimativa de área foliar em rosa do deserto. CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, **Anais...**, Juazeiro/BA, Brasil, 2019.

LEÃO, M. F.; MACHADO, M. M.; OLIVEIRA, L. F. O.; DUARTE, J. A.; SOUZA, R. O.; GÚEZ, C. M. Avaliação do efeito protetor do extrato de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) no dano oxidativo em culturas de leucócitos humanos causados pelo Peroxido de Hidrogênio. In. Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão. **Anais...** Rio Grande do Sul, v.5, n.2, 2013.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Plant Physiology**, Rockville, v. 15, p. 473-97, 1962. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052>.

NOMURA, N. [Sem título], fotografias coloridas, 2019.

ORTIZ, J. I. R. **Efecto Insecticida del Extracto de Ruda (*Ruta graveolens*) y Albahaca (*Ocimum basilicum*) para el Control de *Tribolium castaneum* Bajo Condiciones de Laboratorio.** Saltillo, Universidad Autónoma Agrária Antonio Narro. Coahuila, Mexico, março, 2013.

PARKASH, V.; SINGH, H. *Lavandula angustifolia* L. (Lavander): An important aromatic medicinal shrub and its *in vitro* micro-propagation for conservation. **Journal of Agriculture Technology**, Bangkok, v. 9, p. 691-702, 2013. Disponível em: [http://www.ijataatsea.com/pdf/v9\\_n3\\_13\\_May/18\\_IJAT\\_2013\\_9\\_3\\_Vipin\\_Parkash\\_Plant\\_Science.pdf](http://www.ijataatsea.com/pdf/v9_n3_13_May/18_IJAT_2013_9_3_Vipin_Parkash_Plant_Science.pdf). Acesso em: 30 out. 2020.

PEREIRA, R. C. A.; MOREIRA, A. L. M. **Manjeriço: cultivo e utilização.** Documentos 136. Embrapa Agroindustrial Tropical, 2016, 31p.

PINTO, J. A. O.; BLANK, A. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; ANDRADE, T. M.; SAMPAIO, T. S.; PEREIRA, K. L. G. Chemical characterization of

the essential oil from leaves of basil genotypes cultivated in different seasons. **Blacpma**. Santiago, v. 18, n. 1, p. 58 - 70, 2019. DOI: <https://doi.org/10.35588/blacpma.19.18.1.05>.

POPOVIĆ, Z.; KOSTIĆ, M.; STANKOVIĆ, S.; MILANOVIĆ, S.; SIVČEV, I.; KOSTIĆ, I.; KLJAJIĆ, P. Ecologically acceptable usage of derivatives of essential oil of sweet basil, *O. basilicum*, as antifeedants against larvae of the gypsy moth, *L. dispar*. **Journal of Insect Science**, Victoria, v. 13, n. 161, p. 01-12, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/2013;13:161>. doi: 10.1673/031.013.16101.

SANTOS, R. C. S.; PIRES, A. S.; YAMAMOTO, C. H.; COURI, M. R. C.; TARANTO, A. G.; ALVES, M. S.; ARAUJO, A. L. S. M.; SOUZA, O. V. Methyl Chavicol and Its Synthetic Analogue as Possible Antioxidant and Antilipase Agents Based on the *In Vitro* and *In Silico* Assays. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, New York, 11 p., Article ID 2189348, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/2189348>.

SILVA, S. M.; CUNHA, J. P. A. R.; CARVALHO, S.M.; ZANDONADI, C. H. S.; MARTINS, R. C.; CHANG, R. *Ocimum basilicum* essential oil combined with deltamethrin to improve the management of *Spodoptera frugiperda*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 41, n. 6, p. 665-675, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-70542017416016317>.

SINDICATO DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS FARMACÊUTICOS. Farmacêuticos investem R\$ 332 milhões em fitoterápicos. Consultado em: 14/04/2019 Disponível em [http://sindusfarma.org.br/cadastro/index.php/site/ap\\_imprensas/imprensa/681](http://sindusfarma.org.br/cadastro/index.php/site/ap_imprensas/imprensa/681).

VELOSO, R. A.; DE CASTRO, H. G.; CARDOSO, D. P.; JUNIOR, A. F. C.; CHAGAS, L. F. B. Estudo comparativo entre acessos e cultivares de manjeriço no Estado do Tocantins. **Revista Verde**, Pombal, v. 9, n. 4, p. 224-229, 2014. DOI: <https://doi.org/10.18378/rvads.v9i4.2951>.

## ANEXO

Anexo 1: Resumo da análise de variância e pressuposições das características número de folhas (FOL), número de brotos (NBR), comprimento de parte aérea (AER), comprimento de parte radicular (RAD), massa seca (MSE), porcentagem de sobrevivência (SOB) e de plântulas com hiperhidricidade (HIP) de manjerição (*Ocimum basilicum*) *in vitro* em dois meios de cultura. Uberlândia-MG, 2020.

FV	GL	FOL	NBR	AER	RAD	MSE	SOB	HIP
Cultivares	3	<b>0,000</b> <sup>1</sup>	0,561	<b>0,000</b>	<b>0,004</b>	0,424	0,079	0,246
Meio	1	0,119	0,561	0,122	0,837	<b>0,005</b>	0,113	<b>0,002</b>
Cultivares*Meio	3	<b>0,043</b>	0,864	<b>0,043</b>	0,213	0,325	0,365	0,996

<sup>1</sup>Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F em negrito.

Anexo 2: Resumo da análise de variância das características das plântulas *in vitro* de manjerição (*Ocimum basilicum*) em microambiente com um, dois e sem filtros na tampa do frasco. Uberlândia-MG, 2020. Número de folhas (FOL), número de brotos (NBR), comprimento da parte aérea (AER) e radicular (RAD), massa seca (MSE), teor de clorofila (SPD) e porcentagem de contaminação (CON).

FV	GL	FOL	NBR	AER	RAD	MSE	SPD	CON
Cultivares	3	0,001 <sup>1</sup>	<b>0,002</b>	0,001	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,003</b>	0,494
Tampa	2	0,074	0,524	0,111	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	0,085	<b>0,000</b>
Cul x Tam	6	<b>0,003</b>	0,303	<b>0,024</b>	<b>0,000</b>	0,060	<b>0,004</b>	0,091

<sup>1</sup>Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F em negrito.

Anexo 3: Resumo da análise de variância e pressuposições das características número de folhas (FOL), número de brotos (NBR), comprimento (cm) da parte aérea (AER), massa fresca (MFR) massa seca (MSE) (g), teor de clorofila (SPD) e porcentagem de plântulas com hiperhidricidade (HIP) *in vitro* de cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum*) sob diferentes ambientes luminosos. Uberlândia-MG, 2020.

FV	GL	FOL	NBR	AER	MFR	MSE	SPD	HIP
Cultivares	4	0,8387	20,868	<b>0,0000</b>	30,588	15,475	9,7309	4,1235
Lâmpadas	4	<b>0,0000</b>	9,8711	<b>0,0044</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0558</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0010</b>
Cult x Lamp	16	100,00	100,00	13,781	31,156	7,3684	5,1977	8,0960

Negrito significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Anexo 4: Resumo da análise de variância e pressuposições das características número de folhas (FOL), número de brotos (NBR), comprimento (cm) da parte aérea (AER) e radicular (RAD) massa fresca (MFR), massa seca (MSE) e teor de clorofila (SPD) das plântulas *in vitro* de cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum*) em ambientes luminosos. Uberlândia-MG, 2020.

FV	GL	FOL	NBR	AER	RAD	MFR	MSE	SPD
Cultivares	2	<b>0,005</b>	<b>0,009</b>	0,130	1,000	1,000	0,968	<b>0,002</b>
Lâmpada	1	<b>0,000</b>	0,005	0,005	0,115	<b>0,001</b>	<b>0,000</b>	0,136
Cult x Lamp	2	0,174	<b>0,014</b>	<b>0,012</b>	0,280	0,118	0,208	1,000

Negrito significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Anexo 5: Resumo da análise de variância das características comprimento da parte aérea (AER), diâmetro da copa (COP), massa fresca (MFR), massa seca (MSE), teor de água (TAG), teor de clorofila (SPD) e área foliar (AFO) das quatro cultivares de *Ocimum basilicum* em vasos. Uberlândia-MG, 2020.

FV	GL	AER	COP	MFR	MSE	TAG	SPD	AFO
Cultivares	3	<b>0,001<sup>1</sup></b>	<b>0,001</b>	0,068	<b>0,019</b>	<b>0,000</b>	<b>0,021</b>	<b>0,002</b>
Bloco	4	0,891	0,210	0,211	0,251	0,764	0,524	0,706

<sup>1</sup>Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F em negrito.

	LED Growlux	LED Ouro color
Voltagem (V)	100-240	100-240
Fluxo luminoso (lm)	380	
Durabilidade (horas)	25000	30000
Cores	Azul e Vermelho	Amarelo/Azul/Verde/Vermelho
Origem	Zhejiang	Brasil
Marca	Gaungji	Ourolux
Modelo	GJ-GL12-A1-01	Ouro 60 colors
Potência (w)	7	7
Aplicação	Cultivo protegido	Ambientes fechados

Anexo 6: Informações técnicas das lâmpadas usada no cultivo in vitro de manjeriço (*Ocimum basilicum*), Uberlândia-MG, 2020.



## ANEXO FIGURAS



Figura 1: Folhas e flores da cultivar Anise.



Figura 2: Flor, inflorescência e folhas da cultivar Cinnamon.



Figura 3: Folhas e flores da cultivar Grecco a Palla (NOMURA, 2019).



Figura 4: Flor, inflorescência e folhas da cultivar Italian Large Leaf.



Figura 5: Flor, inflorescência e folhas da cultivar Limoncino.



Figura 6: Ápice e folhas da cultivar Maria Bonita.

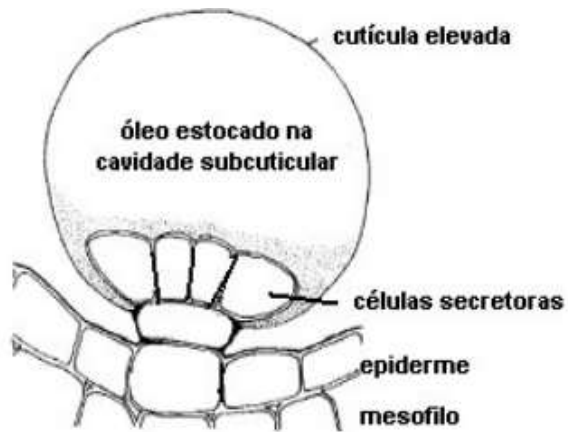


Figura 7 Esquema de produção e armazenamento do óleo essencial (GARLET, 2007).

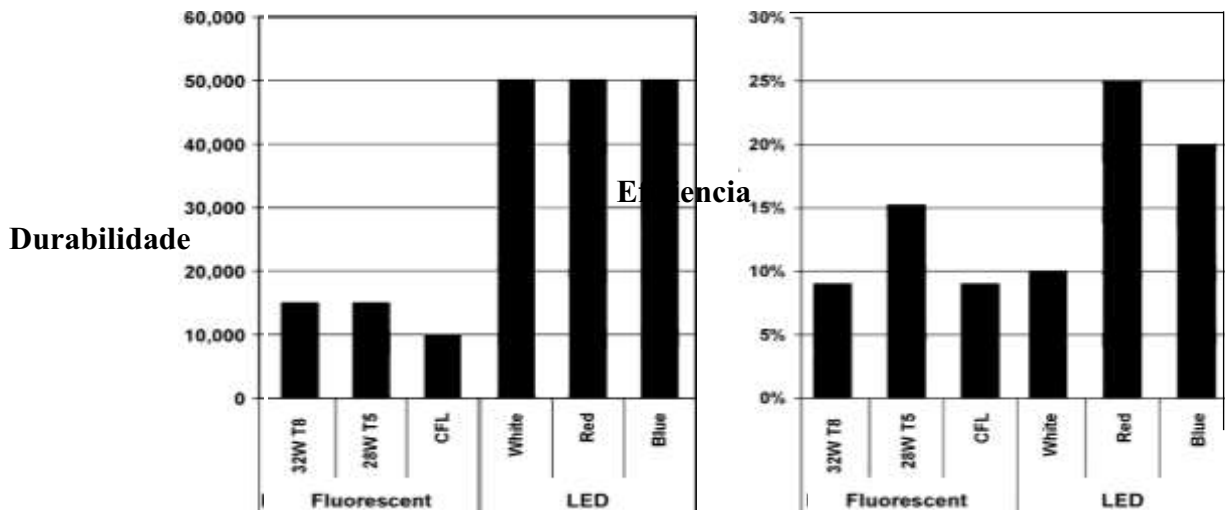


Figura 8: Durabilidade (horas) e eficiência luminosa (lumens) de diferentes tipos de lâmpadas Fluorescente e LED (BOURGET,2008).



Figura 9: Lâmpada LED Growlux indicada para horticultura. (MEAN WELL, 2020).

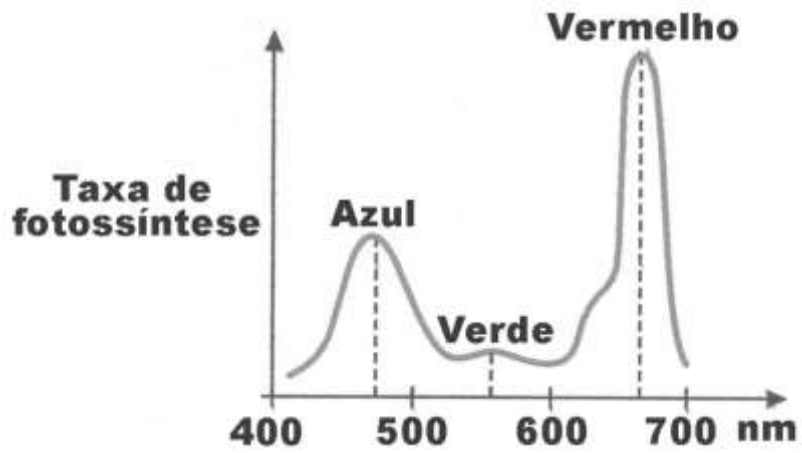


Figura 10: Taxa fotossintética das plantas segundo o comprimento de onda de luz (SANTOS, 2013).



Figura 11: Tipos de tampas de frascos usados em experimento com cultivares de manjeriço.



Figura 12: Conjunto de cinco experimentos testando efeito da luminosidade e cultivares de manjeriço. Uberlândia-MG, 2020.

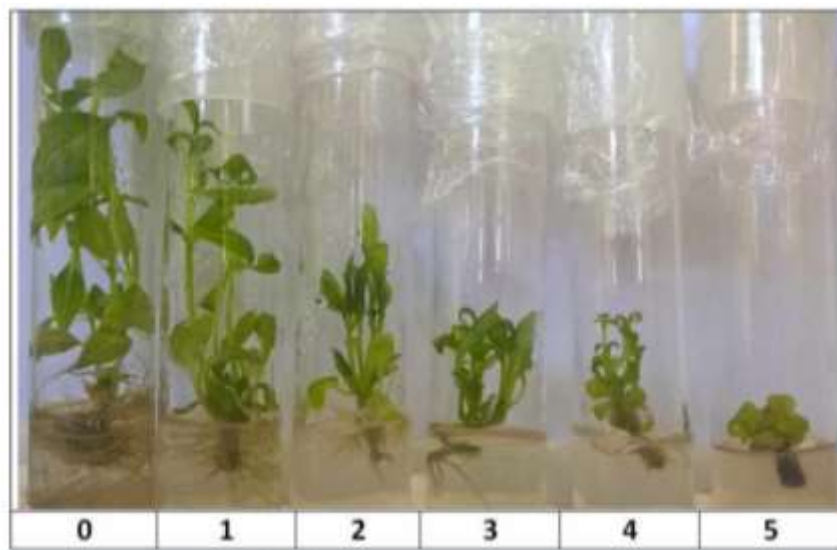


Figura 13: Escala para quantificação de hiperhidricidade em plântulas de manjeriço cultivadas in vitro (TRENTO,2017)



Figura 14: Conjunto de dois experimentos testando efeito da luminosidade e cultivares de manjerição. Uberlândia-MG, 2020.



Figura 15: Flores, inflorescência e sementes de manjerição.



Figura 16 Cultivares de manjerição em vasos.



Figura 17: Folhas frescas de manjeriçao Anise para extraçao de óleo essencial.



Figura 18: Área foliar de folhas de manjeriçao através do aplicativo Easy leaf area free.





Figura 19: Formato das folhas das cultivares Maria Bonita, Cinnamon, Italian Large Leaf, Grecco a Palla, Anise e Limoncino respectivamente.