



**11ª Jornada Científica e  
Tecnológica do IFSULDEMINAS**  
& **8º Simpósio de  
Pós-Graduação**

**Determinação de protocolo de assepsia para estabelecimento *in vitro* de *Ocimum basilicum* -  
Manjerição Roxo**

**Ana M. S. FERREIRA<sup>1</sup>; Bárbara MARCONDES<sup>2</sup>; Amanda K. dos R. ALFEU<sup>3</sup>; Daniele N. dos REIS<sup>4</sup>;  
Carolina M. MOREIRA<sup>5</sup>**

**RESUMO**

O Manjerição Roxo (*Ocimum basilicum* L.) é uma planta que apresenta desenvolvimento lento no planalto de Poços de Caldas, além de não apresentar produtividade significativa de metabólitos secundários quando cultivados em campo, fatos que justificam a propagação *in vitro* como uma ferramenta de extrema importância. O objetivo deste trabalho foi determinar protocolos de assepsia para obtenção de menor taxa de contaminação e oxidação *in vitro* de sementes de *Ocimum basilicum* L.. Os resultados obtidos permitiram concluir que os explantes submetidos à solução de 100% de hipoclorito de sódio na ausência do álcool 70% obtiveram a menor porcentagem de contaminação, 0,8%. Não se observou nenhuma oxidação nas sementes, mostrando assim que o hipoclorito não apresentou efeito tóxico.

**Palavras-chave:**

Assepsia; Micropropagação; Hipoclorito de Sódio.

**1. INTRODUÇÃO**

O manjerição (*Ocimum basilicum* L.) é uma planta herbácea, aromática e medicinal, apresenta um caule do tipo ramificado sendo um subarbusto podendo ser anual ou perene, dependendo da região de cultivo, com crescimento de 30 a 50 cm de altura (MONFORT, 2013).

Esta espécie possui características medicinais e aromáticas, isso faz com que se tenha grande interesse das indústrias alimentícia, farmacêutica, medicinal entre outras. Ele possui em suas flores e folhas composições químicas que podem auxiliar nos sistemas digestórios e respiratórios, além de serem utilizados como tempero. O óleo que é extraído desta espécie é utilizado como antiespasmódico, antitérmico, auxiliando também na digestão e no combate de infecções bacterianas e parasitárias intestinais. (FAVORITO et al., 2011; VELOSO, et al., 2014)

Analisando estudos sobre a espécie *O. basilicum* L. de coloração roxa, observa-se que não se tem muito conhecimento e pesquisas realizadas. No planalto da cidade de Poços de Caldas –MG, esta espécie apresenta dificuldade em seu desenvolvimento e propagação não sendo encontrada com muita frequência, este fato pode se dar pela característica da espécie ter certa preferência por climas mais quentes e úmidos (FAVORITO et al., 2011).

<sup>1</sup> PIVIC, IFSULDEMINAS – *Campus* Poços de Caldas. E-mail: ninhaf2158@gmail.com

<sup>2</sup> PIVIC, IFSULDEMINAS – *Campus* Poços de Caldas. E-mail: barbaracmarcondes@gmail.com.

<sup>3</sup> PIVIC, IFSULDEMINAS – *Campus* Poços de Caldas. E-mail: amandareisalfeu@outlook.com

<sup>4</sup> Coorientadora, Jardim Botânico de Poços de Caldas. E-mail: danielle.nog@gmail.com

<sup>5</sup> Orientadora, IFSULDEMINAS – *Campus* Poços de Caldas. E-mail: carolina.moreira@ifsulde Minas.edu.br

Espécies aromáticas, na grande maioria, não apresentam elevada produtividade de metabólitos secundários quando cultivadas em campo, devido, principalmente à própria variabilidade genética da espécie, assim para obtenção de matéria prima de qualidade o uso da biotecnologia passa a ser uma ferramenta de extrema importância, justificando a necessidade da determinação de protocolos de cultivo *in vitro* (NOGUEIRA e ROMANO, 2002).

Um dos princípios básicos para o sucesso da cultura de tecidos depende, em parte, de medidas de controle e prevenção da contaminação microbiana (LEIFERT et al., 1994; SILVA et al., 2003), devido a esta técnica proporcionar um ambiente favorável para o crescimento de microrganismos, como bactérias, leveduras e fungos filamentosos (DANTAS, 2002). Para minimizar a contaminação microbiana, inúmeros protocolos de assepsia são apresentados por diversos autores. Esses relatam o uso de substâncias, como hipoclorito de sódio (PEREIRA et al, 2009).

Encontram-se estudos com cultura de tecido da espécie *O. basilicum* L., porém com espécie de coloração roxa ainda é incipiente. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo identificar qual metodologia de assepsia possibilita a menor taxa de contaminação e oxidação *in vitro* de explantes de manjeriço (*O. basilicum*).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos na Fundação Jardim Botânico de Poços de Caldas – MG. Como fonte de explantes foram utilizadas sementes de *Ocimum basilicum* L., de coloração roxa.

As sementes foram inicialmente lavadas abundantemente com água destilada e detergente neutro. Em seguida, para definição do melhor protocolo de assepsia dos explantes, foram aplicados tratamentos com diferentes concentrações (25%, 50% e 100%) de hipoclorito de sódio a 2,5% de cloro ativo. Também foi avaliada a presença ou ausência de álcool 70% na assepsia dos explantes.

Em todos os seis tratamentos os explantes foram mantidos sob agitação constante por 20 minutos na solução de hipoclorito. Após este tempo, os explantes dos tratamentos com presença de álcool, foram mantidos por mais um minuto em solução de álcool 70%. Após a imersão nas soluções os explantes passaram por uma tríplice lavagem em água destilada e autoclavada, sob capela de fluxo laminar. Para cada tratamento foram realizadas 12 repetições.

Após a assepsia, as sementes foram inoculadas em potes contendo 40 ml de meio MS (Murashige e Skoog, 1962) suplementado com 30g/L de sacarose com pH ajustado para  $5,7 \pm 0,1$  e mantidos em sala de crescimento à temperatura de  $25 \pm 1^\circ \text{C}$ .

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), formando um esquema fatorial 3x2. A porcentagem de contaminação, por fungo e bactéria, e oxidação foram avaliados após 21 dias. A análise de dados foi realizada utilizando-se o software R com a realização da análise de

variância, e para os tratamentos significativos, procedeu-se a aplicação do teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise de variância relativa aos dados obtidos revela que não houve significância para a interação entre os dois fatores. Já para a análise de variância dos fatores de forma individual, os tratamentos utilizando cloro ativo em diferentes concentrações para assepsia das sementes de manjeriço roxo resultaram em diferença significativa para a avaliação realizada vinte e um dias após o início do experimento. Para a variável contaminação, os dados obtidos no experimento demonstram que quanto menor a concentração do hipoclorito na solução desinfetante, maior a contaminação dos explantes (Tabela 1).

O tratamento com a concentração de 25% de hipoclorito de sódio e presença de álcool 70% apresentou a maior porcentagem de contaminação, 66,6%, já os explantes que foram submetidos à solução de 100% de hipoclorito de sódio na ausência do álcool 70% obtiveram a menor porcentagem de contaminação, 0,8%.

Esse resultado evidencia a eficiência do hipoclorito de sódio na desinfestação e controle da sanidade do material introduzido *in vitro*. Esse fato pode ser atribuído ao grande potencial antimicrobiano do agente antisséptico utilizado, que penetra na parede celular das bactérias e desativa uma enzima essencial à sobrevivência dos microrganismos (MEYER, 1994).

**Tabela 1.** Porcentagem de contaminação das sementes de manjeriço roxo submetidas a concentrações de hipoclorito de sódio e presença ou ausência de álcool 70% no processo de assepsia. Poços de Caldas, 2019.

	Hipoclorito de Sódio (%)	Álcool 70% (presença ou ausência)	Contaminação (%)
T1	25	Presença	66,6 b
T2	50	Presença	33,3 a
T3	100	Presença	33,3 a
T4	25	Ausência	16,6 a
T5	50	Ausência	16,6 a
T6	100	Ausência	0,8 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Picolotto et al. (2007) também evidenciaram a eficiência do hipoclorito de sódio na assepsia de explantes para estabelecimento *in vitro*. Pereira et al. (2011), analisando o efeito de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio na desinfestação e estabelecimento *in vitro* de bananeira também observaram que maiores concentrações de hipoclorito se mostraram mais eficientes.

Uma outra variável analisada no presente experimento foi a porcentagem de oxidação, porém em todos os tratamentos não foi observado a oxidação das sementes, evidenciando o efeito não tóxico do hipoclorito de sódio e do álcool para os explantes.

#### 4. CONCLUSÕES

O tratamento, a qual a espécie *Ocimum basilicum* L. de coloração roxa foi submetido, com a concentração de 100% e ausência de álcool, foi o que apresentou maior eficiência no controle à patógenos. As concentrações de hipoclorito não oxidaram as sementes de Manjeriçã Roxo, demonstrando que o mesmo não é tóxico para essa espécie.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação Jardim Botânico de Poços de Caldas por firmar parceria com o Instituto Federal do Sul de Minas - Campus Poços de Caldas.

#### REFERÊNCIAS

- FAVORITO, P.A; et al. Características Produtivas do Manjeriçã (*Ocimum basilicum* L.) em Função do Espaçamento entre Plantas e entre Linhas. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, Botucatu, v.13, especial, p.582-586, 2011.
- MEYER, S. T. O uso de cloro na desinfecção de águas, a formação de trihalometanos e os riscos potenciais à saúde pública. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 1, p. 99-110. 1994.
- MONFORT, L. E. F. **Crescimento e produção de constituintes voláteis de *Ocimum basilicum* e *Mentha arvensis* por cultura de tecidos**. 2013. 131 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.
- NOGUEIRA, J.M.F.; ROMANO, A. Essential oils from micropropagated plants of *Lavandula viridis*. **Phytochemical Analysis**, v. 13, p. 4-7, 2002.
- PEREIRA, G.A.; CORREA, L. S.; BOLIANI, A.C. Desinfestação e Estabelecimento *in vitro* de Explantes de Bananeira ‘grande naine’ em Diferentes Concentrações de Hipoclorito de Sódio. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal - SP, Volume Especial, E. 222-226, out. 2011.
- PICOLOTTO, Luciano.; et al. Efeito do Hipoclorito de Sódio, Fotoperíodo e Temperatura no Estabelecimento *in vitro* de Jabuticabeira. **Scientia Agraria**, v.8, n.1, p.19-23, 2007.
- VELOSO, R. A.; et al. Teor e Composição do Óleo Essencial de Quatro Acessos e duas Cultivares de Manjeriçã (*Ocimum basilicum* L.). **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, Campinas, v.16, n.2, supl. I, p.364-371, 2014.