

INTRODUÇÃO

O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), pertencente a família Lamiaceae é espécie aromática e bioativa. Rica em terpenóides e fenilpropanóides e utilizada amplamente como condimento ornamental e na produção de cosméticos, perfumes e fármacos. Embora a biotecnologia esteja bastante avançada para esta cultura e estudos de transformação genética e edição genômica foram disponibilizados, observa-se que o principal problema no desenvolvimento de otimizações de protocolos de clonagem *in vitro* concentra-se no fato de que as taxas de regeneração de plantas transformadas e editadas são baixas. Neste contexto, os objetivos deste trabalho foram disponibilizar um protocolo de regeneração indireta via explantes foliares, micropropagação e aclimatização das plantas induzidas *in vitro*.

METODOLOGIA

Local de realização dos experimentos - Laboratórios didáticos do Campus da Universidade Federal da Fronteira Sul, localizado em Laranjeiras do Sul, Paraná.

Material vegetal e condições experimentais - As sementes de manjeriço (*Ocimum basilicum*) da cultivar Gemini foram adquiridas da empresa Isla Multi®. As culturas *in vitro* foram conduzidas em câmara de germinação BOD, sob luz fluorescente branca fria com densidade de fluxo fotossintético de 40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, fotoperíodo de 16:8 e temperatura de 25 ± 2 °C. O meio de cultura de base foi MS (Murashige & Skoog, 1962) na sua formulação original, pH ajustado a 5,8 e autoclavados durante 20 min a 120°C.

Desinfestação das sementes - Os tratamentos com hipoclorito de sódio comparados foram os seguintes: T1 - controle, T2: 2,5%, T3: 5%, T4: 7,5%, T5: 10%. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 7 repetições e 12 sementes por unidade experimental.

Efeito do thidiazuron (TDZ) na regeneração indireta de brotações via explantes foliares - Os tratamentos foram as seguintes concentrações de TDZ: T1. Controle (Sem TDZ), T2. 0,1 mg, T3. 0,5 mg, T4. 0,75 mg e T5. 1,0 mg. Aos 28 dias, as porcentagens de explantes formando calos, porcentagem de explantes regenerando foram analisadas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 7 repetições e 5 explantes foliares por unidade experimental.

Alongamento, enraizamento e aclimatização- As plântulas foram cultivadas durante 28 e depois transferidas para casa de vegetação com nebulização e cultivadas em substrato composto por vermiculita, casca de arroz carbonizada e substrato Plantmax® na proporção 1:1:1. Aos 28 dias, foram analisadas a taxa de plantas aclimatizadas e plantas mortas. Todos os dados das características avaliadas foram submetidos a análises de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey 5% utilizando o programa estatístico Assistat 7.7 beta®.

RESULTADOS E CONCLUSÕES

Os resultados médios das características agrônômicas avaliadas estão apresentados na **Tabela 1** e **Tabela 2**, após 28 dias do cultivo *in vitro*.

Tabela 1: Efeito do pré-tratamento com etanol 70 % e do hipoclorito de sódio nas porcentagens de germinação e contaminação em sementes de *Ocimum basilicum* L. após 28 dias de cultivo em meio de cultura MS

Concentrações de hipoclorito de sódio (%)	Germinação (%)	Contaminação (%)
Controle	0,0 d	90,00 a
2,5	25,0 a	5,00 b
5	5,00 b	12,50 c
7,5	5,00 b	12,50 c
10	2,00 c	12,50 c

As médias seguidas das mesmas letras na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 2: Efeito do TDZ nas porcentagens de explantes foliares formando calos, calos regenerando brotações e oxidação em explantes foliares de *Ocimum basilicum* L., após 28 dias de isolamento em meio de cultura MS

Tratamentos (mg)	Calogênese	Regeneração dos brotos
0	25,33 d	0,00 d
0,25	60,13 c	25,0 b
0,5	85,20 a	45,0 a
0,75	75,44 b	12,5 c
1	79,61 b	12,5 c

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade



Alongamento, enraizamento e aclimatização - O meio de cultura MS isento de fitorreguladores proporcionou um valor médio de comprimento das plântulas (cm) de 6,37 e quanto ao enraizamento, a média observada foi de 95% de plantas enraizadas após 28 dias de cultivo. Após o período de 28 dias de aclimatização em casa-de-vegetação, 85 % das plantas sobreviveram. O tamanho médio da parte aérea das plantas foi de 15.80 cm e não foram observadas alterações fenotípicas.

Conclusões

O protocolo utilizado foi eficiente para a introdução *in vitro* e regeneração de plantas de *Ocimum basilicum* L. a partir de explantes foliares. O regulador TDZ demonstrou eficiência na indução de calos e regeneração de brotos e o substrato composto por vermiculita, casca de arroz carbonizada e o substrato composto por vermiculita, casca de arroz carbonizada e substrato Plantmax® na proporção 1:1:1 apresentou-se adequado para a aclimatização das mudas produzidas *in vitro*.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos coordenadores dos Laboratórios de microbiologia e germinação pelo suporte técnico e ao **Projeto Escola** vinculado ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Laranjeiras do sul – Paraná.