

MICROPROPAGAÇÃO E ACLIMATIZAÇÃO DE ACESSOS DE *Hyptis pectinata*

MICROPROPAGATION AND ACCLIMATIZATION OF *Hyptis pectinata* ACCESSIONS

ROSANA BARROSO FEITOSA¹, MARIA CLEZIA DOS SANTOS², MARIANA DE SOUZA SANTOS³,
MARIA DE FÁTIMA ARRIGONI-BLANK⁴, ARIE FITZGERALD BLANK⁵

¹Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Engenharia Agrônômica, Av. Marechal Rondon, s/n, São Cristóvão, SE, Brasil, rosana.barroso@hotmail.com

²Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Engenharia Agrônômica, kleezinha.sa@gmail.com

³Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Engenharia Agrônômica, marianass.agro@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Engenharia Agrônômica, arrigoni@ufs.br

⁵Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Engenharia Agrônômica, afblank@ufs.br

RESUMO

Hyptis pectinata é uma espécie que se destaca por sua ampla utilização no Nordeste brasileiro nos tratamentos de infecções bacterianas, dores e inflamações. Neste trabalho foram realizados diferentes ensaios para o estabelecimento de protocolo de micropropagação de acessos de *H. pectinata*. Para aclimatização das mudas micropropagadas foram utilizados substratos contendo pó de coco e/ou vermiculita suplementado com calcário, e/ou fertilizante NPK (3-12-6), e/ou sais do meio MS. Os acessos SAM-016, SAM-017 e SAM-018 de *H. pectinata* podem ser micropropagados em 50% dos sais MS sem regulador de crescimento. A aclimatização das mudas micropropagadas pode ser realizada utilizando o substrato pó de coco + 1 g L⁻¹ de calcário + sais do MS.

Termos para indexação: Lamiaceae, reguladores de crescimento, substratos.

ABSTRACT

Hyptis pectinata is an important specie with a wide use in the Brazilian northeast in treatments of bacterial infections, pain and inflammation. In this work, different experiments were performed in order to establish a micropropagation protocol for *H. pectinata* accessions. For plantlets acclimatization, substrates containing coconut powder and/or vermiculite supplemented with limestone and/or NPK (3-12-6) fertilizer, and/or MS medium salts were used. SAM-016, SAM-017 and SAM-018 accessions may be micropropagated in 50% MS salts without growth regulators. Plantlet acclimatization may be obtained using the substrate containing coconut powder + 1 g L⁻¹ limestone + MS salts.

Index terms: Lamiaceae, growth regulators, substrates.

INTRODUÇÃO

As plantas medicinais vêm sendo amplamente utilizadas nas últimas décadas com finalidades terapêuticas,

impulsionadas pelo alto custo dos produtos farmacêuticos industrializados. Dentre elas, a espécie *Hyptis pectinata*, também conhecida popularmente como “sambacaitá” ou “canudinho”, é amplamente cultivada no Nordeste brasileiro (RAYMUNDO et al., 2011).

Uma alternativa ao processo convencional de propagação do “sambacaitá” por meio de sementes, é a técnica da propagação *in vitro*. Altas taxas de multiplicação podem ser alcançadas através desse método, com inúmeras vantagens em relação à multiplicação em campo, como a produção de mudas de qualidade superior, em tempo e espaço reduzidos. A grande barreira dessa técnica biotecnológica é o estabelecimento de um protocolo com um meio de cultivo e condições adequadas que possam suprir as necessidades de cada espécie vegetal para indução do processo de morfogênese possibilitando dessa forma, a multiplicação em larga escala (BERTOZZO & MACHADO, 2010).

A aclimatização é considerada a última etapa do processo, e é caracterizada como uma adaptação gradativa das plantas micropropagadas em casa de vegetação para posterior transferência ao campo, a fim de minimizar os efeitos provenientes de uma mudança brusca de ambientes, uma vez que eram mantidas em local totalmente controlado e asséptico.

(Recebido em 28 de maio de 2014 e aprovado em 24 de janeiro de 2015)

Essa etapa é essencial, pois consiste na mudança da condição heterotrófica das plantas micropropagadas *in vitro* para a autotrófica (JÚNIOR et al., 2013). Para isso, a escolha correta do substrato é de fundamental importância para o sucesso da aclimatização. O substrato deve ter boas características físicas e químicas que proporcionem boa drenagem e aeração, além de ser rico em nutrientes, a fim de facilitar o desenvolvimento da planta (NOMURA et al., 2009). Assim, este trabalho teve como objetivo estabelecer protocolo de micropropagação e aclimatização de acessos de *H. pectinata*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal, local e condições dos ensaios

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos e Melhoramento Vegetal do Departamento de Engenharia Agrônômica da UFS.

Foram utilizados explantes nodais, com aproximadamente 2 cm, de plantas estabelecidas *in vitro* dos acessos SAM-016, SAM-017 e SAM-018 de *H. pectinata* a partir da germinação de sementes provenientes de Poço Redondo, Canindé do São Francisco e Nossa Senhora da Glória / SE, respectivamente. Em todos os ensaios o meio de cultura foi submetido à autoclavagem (121 ± 1 °C e 1,05 atm) por 15 minutos. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura controlada de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa de $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC). Composto por cinco repetições, sendo quatro frascos por repetição com dois explantes cada.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Estabelecimento *in vitro* de acessos de *H. pectinata*

As sementes foram imersas em água destilada acrescida de quatro gotas de Tween /100 mL e agitadas

por cinco minutos. Em câmara de fluxo laminar horizontal foi realizada tríplice lavagem em água destilada autoclavada, sendo posteriormente imersas em solução de hipoclorito de sódio a 4% (v/v) por 5 minutos, seguindo de nova tríplice lavagem em água destilada autoclavada para serem inoculadas em meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) em grupos de 15 a 20 sementes por frasco permanecendo por 45 dias após a inoculação.

Multiplificação *in vitro*

Efeito do 6-Benzilaminopurina (BAP) e carvão ativado

Para multiplicação *in vitro*, o meio utilizado foi o MS modificado (um quarto dos nitratos de amônia e de potássio) e pH ajustado para 5,8. Os tratamentos aplicados foram: 1) meio modificado; 2) meio modificado + 1% de carvão ativado; 3) meio modificado + $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ BAP e 4) meio modificado + 1% de carvão ativado + $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP.

As avaliações foram realizadas aos 30 dias de cultivo, analisando as variáveis, número de brotos por explante, comprimento das brotações (cm) e massa seca de parte aérea (mg).

Efeito do BAP e variações dos sais do meio de cultivo

O ensaio foi em esquema fatorial $3 \times 3 \times 2$, sendo três concentrações de sais MS (50, 75 e 100%), três acessos (SAM-016, SAM-017 e SAM-018) e duas concentrações de 6-benzilaminopurina (0,0 e $1,0 \text{ mg L}^{-1}$). Aos 30 dias foram avaliados número de brotos, comprimento de raiz (cm) e massa seca de parte aérea (mg).

Aclimatização

As plantas micropropagadas foram retiradas dos frascos aos 30 dias e lavadas em água corrente para eliminação do meio de cultura aderido às raízes. Em seguida foram transferidas para bandejas de poliestireno expandido contendo os diferentes

tratamentos e mantidas em ambiente protegido com tela sombrite de 50% e sistema de nebulização intermitente.

Foram utilizados seis substratos, sendo S1: PCB - Pó de coco + 1 g L⁻¹ de calcário + 12 g L⁻¹ de NPK (3-12-6); S2: PCBV - Pó de coco + vermiculita (1:1 v/v) + 1 g L⁻¹ de calcário + 12 g L⁻¹ de NPK (3-12-6); S3: PCBV - Pó de coco + vermiculita (2:1 v/v) + 1 g L⁻¹ de calcário + 12 g L⁻¹ de NPK (3-12-6); S4: VMS - vermiculita + sais do MS; S5: VB - vermiculita + 12 g L⁻¹ de NPK (3-12-6) e S6: PCMS - Pó de coco + 1 g L⁻¹ de calcário + sais do MS. Cada unidade experimental foi constituída por cinco repetições com quatro plantas cada. Aos 30 dias foram avaliadas as variáveis: sobrevivência (%), comprimento de parte aérea (cm), comprimento de raiz (cm), número de brotos, número de folhas e massa seca de parte aérea e de raiz (mg).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Multiplicação *in vitro* de *H. pectinata*

Efeito do BAP e carvão ativado

Não houve diferença significativa entre os tratamentos para os acessos SAM-017 e SAM-018 quanto à variável número de brotos. Para o acesso SAM 016 a maior média foi obtida em meio MS modificado, não diferindo significativamente dos tratamentos meio básico+ 1% de carvão ativado e meio básico + 1% de carvão ativado + 0,5 mg L⁻¹ de BAP (Tabela 1).

Resultados contrários foram obtidos em plantas de segurelha (*Satureja hortensis* L.) onde não houve indução de brotações em meio MS na ausência da citocinina BAP (NAVROSKI, et al., 2014). Na propagação *in vitro* a utilização das citocininas para indução de brotações é usual, no entanto há espécies que brotam mais facilmente sem a necessidade desses reguladores, o que possivelmente pode estar

relacionado aos elevados níveis de fitohormônios endógenos. Comparado os acessos dentro de cada tratamento observou-se que o SAM-016 obteve um maior número de brotos por explante, não diferindo dos demais acessos apenas no tratamento em meio MS suplementado com 0,5 mg L⁻¹ de BAP (Tabela 1).

Um maior comprimento de brotos para os acessos avaliados foi obtido em meio na presença de carvão ativado quando comparados com aqueles cultivados na ausência deste, exceto para o acesso SAM-016, onde esses tratamentos não diferiram do meio MS. Esses resultados podem estar relacionados à capacidade que o carvão ativado tem de reduzir a atividade dos reguladores de crescimento a partir da adsorção dos mesmos do meio de cultura (CHERUVATHUR et al., 2010). O acesso SAM-016 apresentou menores comprimentos de brotos em todos os tratamentos avaliados (Tabela 1).

Para massa seca de parte aérea, não houve diferença significativa entre os tratamentos para os acessos SAM-017 e SAM-018. Para o acesso SAM-016 o maior valor de massa seca foi proporcionado pelo meio MS suplementado com 0,5 mg L⁻¹ de BAP (7,63 mg) (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos em alfavaca (*Ocimum selloi* Benth.), onde um maior acúmulo de massa seca foi obtido em meio suplementado com BAP (MONFORT et al., 2012). Comparando os diferentes acessos, observa-se que o SAM-018 obteve maiores médias de massa seca em relação aos demais acessos, diferindo apenas do SAM-017 e não diferindo do SAM-016 em meio MS modificado+ 0,5 mg L⁻¹ BAP (Tabela 1).

Experimento 2: Efeito do BAP e variações do meio de cultivo

Houve interação tripla entre variações dos sais do MS x BAP x acessos. Para a variável número de brotos, os três acessos não apresentaram diferença significativa entre as variações de sais do MS na ausência ou na presença de BAP (Tabela 2).

TABELA 1 – Número de brotos, comprimento de brotos (cm) e massa seca de parte aérea de acessos de *H. pectinata* em função do BAP e carvão ativado. São Cristóvão, UFS.

Tratamento	SAM-016	SAM-017	SAM-018
	-----Número de brotos (cm) -----		
MS modificado	5,34aA	2,00aC	3,57aB
MS modificado+ 1% de carvão ativado	4,36abA	1,59aC	3,02aB
MS modificado+ 0,5 mg L ⁻¹ BAP	3,28bA	2,06aA	2,57aA
MS modificado+ 1% de carvão ativado + 0,5 mg L ⁻¹ de BAP	4,26abA	1,98aB	2,89aB
CV (%)	26,14		
	-----Comprimento de brotos (cm) -----		
MS modificado	0,57abB	1,29bA	1,11bA
MS modificado+ 1% de carvão ativado	0,77aB	2,08aA	1,78aA
MS modificado+ 0,5 mg L ⁻¹ BAP	0,31bB	1,18bA	1,01bA
MS modificado+ 1% de carvão ativado + 0,5 mg L ⁻¹ de BAP	0,86aB	2,27aA	1,98aA
CV (%)	19,83		
	-----Massa seca de parte aérea (mg) -----		
MS modificado	3,79bB	6,72aAB	9,26aA
MS modificado+ 1% de carvão ativado	3,62bB	5,81aAB	8,32aA
MS modificado+ 0,5 mg L ⁻¹ BAP	7,63aAB	5,19aB	9,85aA
MS modificado+ 1% de carvão ativado + 0,5 mg L ⁻¹ de BAP	3,52bB	6,26aAB	7,64aA
CV (%)	32,02		

Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Na micropropagação de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata*) o meio composto por 50% dos sais MS proporcionou maior número de brotos quando comparado ao MS total (GOLLE et al., 2012). O acesso SAM-016 foi superior aos demais no tratamento suplementado com 100% dos sais na ausência do regulador e superior apenas ao acesso SAM-018 em 50% dos sais suplementado com o BAP (Tabela 2).

Para a variável massa seca de parte aérea, os acessos tiveram comportamento semelhante não apresentando diferença significativa em cada concentração de sais do MS quando suplementado ou não pelo BAP, exceto o acesso SAM-018, onde a concentração de 75% na ausência do BAP, proporcionou uma menor média (Tabela 2). Na propagação *in vitro* a utilização das citocininas para indução de parte aérea é usual, no entanto há espécies que se desenvolvem mais facilmente sem a necessidade desses reguladores, o que possivelmente pode estar relacionado aos elevados níveis de fitohormônios endógenos. Em erva-cidreira-brasileira (*Lippia alba*) as maiores médias de massa seca de parte aérea foram obtidas com a utilização de 0,5 mg L⁻¹ de BAP

(ASMAR et al., 2012). Comparando os acessos dentro de cada tratamento, pode-se observar que o SAM-016 obteve as menores médias nos tratamentos sem adição de regulador quando comparado aos demais acessos, no entanto, não diferiu do acesso SAM-017 nas concentrações de 50% e 100% dos sais do MS e na concentração de 50% do acesso SAM-018. Nos tratamentos suplementados com BAP, o acesso SAM-018 obteve as maiores médias, no entanto, diferiu estatisticamente dos acessos SAM-016 e SAM-017 apenas na concentração de 75% dos sais do MS (Tabela 2).

Um maior comprimento de raiz foi obtido na concentração de 50% dos sais na presença do regulador de crescimento para o acesso SAM-016. Já na ausência do BAP, não houve diferença significativa entre as concentrações de sais do meio MS. Para o acesso SAM-017 na ausência do BAP, uma menor média foi obtida no tratamento composto por 100% dos sais. Na presença do regulador de crescimento, um menor comprimento de raiz foi obtido em 75% dos sais do MS, não diferindo da concentração de 50%. Para o acesso SAM-018 na ausência do BAP, a maior média foi obtida

em 50% dos saís do MS não diferindo da concentração de 75%. Já na presença do BAP, não houve diferença significativa para as diferentes concentrações (Tabela 2). Esses resultados demonstram que o desenvolvimento das raízes de *H. pectinata* foi prejudicado pelas concentrações mais elevadas de saís no meio de cultivo, principalmente na ausência do BAP. Em um meio com limitação nutricional, aumentar o comprimento das raízes é uma maneira da plântula conseguir os nutrientes necessários ao seu desenvolvimento, mesmo que isto implique em gasto de reservas (SOARES et al., 2011). E embora as citocininas sejam fitohormônios que normalmente inibem o sistema radicular, sugerindo que os piores resultados a serem encontrados para o desenvolvimento de raízes sejam quando na utilização desta classe hormonal, a indução ou inibição das raízes no cultivo *in vitro* dependerão não somente da aplicação de substâncias exógenas, mas também do balanço e da interação com as substâncias de crescimento endógenas (MONFORT et al., 2012).

Os acessos SAM-016 e SAM-018 não apresentaram diferença significativa em cada concentração de saís quando suplementada ou não pelo BAP. O acesso SAM-017 diferiu apenas na concentração de 100% dos saís, onde a menor média foi obtida na ausência do BAP (Tabela 2). Resultados semelhantes foram obtidos em *Mentha x gracilis* Sole, onde uma maior porcentagem de enraizamento foi obtida quando cultivadas em meio isento de reguladores de crescimento, não diferindo dos meios acrescidos de reguladores em pequenas concentrações (GARLET et al., 2011). Comparando os acessos dentro de cada tratamento, pode-se observar que o SAM-016 obteve as menores médias nos tratamentos sem adição de regulador, no entanto, não diferiu do SAM-018 em todos os tratamentos e do SAM-017 na concentração de 100% dos saís. Na presença do regulador, o acesso SAM-017 mostrou-se superior na concentração de 100% dos saís do MS (Tabela 2).

Aclimatização

A análise de variância evidenciou interação entre acessos x substratos. Altas taxas de sobrevivência foram

obtidas em todos os substratos testados para os acessos SAM-016 e SAM-017. Para o acesso SAM-018, a menor porcentagem de sobrevivência (65%) foi obtida com a utilização do substrato PCBV (2:1), não diferindo do PCB, PCBV (1:1) e VB (Tabela 3).

A escolha correta dos substratos neste trabalho influenciou o elevado índice de sobrevivência, uma vez que, apesar de não possuírem todos os nutrientes necessários ao desenvolvimento da planta, apresentam características físicas favoráveis para o sucesso da aclimatização. Assim, geralmente são utilizadas misturas de componentes que venham a corrigir determinada carência nutricional (GIRARDI & PESCADOR, 2010). O acesso SAM-016 obteve 100% de sobrevivência para todos os substratos avaliados, entretanto, diferiu estatisticamente apenas do SAM-018 nos substratos PCB e PCBV (2:1) (Tabela 3).

Para a variável altura de planta, o acesso SAM-016 não apresentou diferença significativa entre os diferentes substratos. Os acessos SAM-017 e SAM-018 apresentaram um maior comprimento de parte aérea nos substratos VMS e PCMS (Tabela 3). Resultados semelhantes foram obtidos para comprimento de parte aérea com hortelã japonesa (*Mentha arvensis*) utilizando o substrato constituído de vermiculita umidificada com a solução do meio MS (ARRIGONI-BLANK et al., 2011). Nota-se que o acesso SAM-017 apresentou as maiores médias quando avaliado os acessos em cada substrato, no entanto, não diferiu do SAM-018 nos substratos PCB, PCBV (1:1) e PCMS e do SAM-016 nos substratos PCB e PCBV (1:1) (Tabela 3).

Os substratos VB e VMS proporcionaram um maior comprimento de raiz para os acessos SAM-017 e SAM-018 (Tabela 3). A vermiculita apresenta características como leveza, fácil manuseio e boa capacidade de absorção de água o que possibilita um bom desenvolvimento das raízes (GUEDES et al., 2010). Resultados semelhantes ao deste trabalho foram encontrados na aclimatização de patchouli (*Pogostemon cablin*) onde o substrato contendo vermiculita promoveu maior comprimento de raiz (ARRIGONI-BLANK et al., 2011). Para o acesso SAM-016 as maiores médias foram obtidas com os substratos VMS, VB e PCMS (Tabela 3).

TABELA 2 – Número de brotos, massa seca de parte aérea (mg) e comprimento de raiz (cm) em função da combinação de sais e BAP no meio de cultura. São Cristóvão, UFS.

Sais MS(%)	BAP (mg L ⁻¹)	
	Número de brotos	
	0,0	1,0
----- SAM-016 -----		
50	3,00aA α	4,53aA α
75	3,15aA α	2,80aA α
100	4,80aA α	3,50aA α
----- SAM-017 -----		
50	3,81aA α	4,04aA α
75	2,81aA α	3,28aA α
100	3,04aA $\alpha\beta$	3,72aA α
----- SAM-018 -----		
50	2,22aA α	2,12aA β
75	3,00aA α	3,12aA α
100	2,80aA β	3,22aA α
CV(%)	37,87	
----- Massa seca de parte aérea (mg) -----		
----- SAM-016 -----		
50	9,35aA α	12,23aA α
75	5,34aA β	14,04aA β
100	13,00aA β	12,31aA α
----- SAM-017 -----		
50	19,05aA α	16,44aA α
75	17,22aA α	17,45aA β
100	15,74aA $\alpha\beta$	22,70aA α
----- SAM-018 -----		
50	17,05aA α	23,31aA α
75	17,81aB α	31,74aA α
100	25,62aA α	23,48aA α
CV(%)	43,65	
----- Comprimento de raiz (cm) -----		
----- SAM-016 -----		
50	3,90aA β	5,20aA α
75	2,76aA β	2,73bA α
100	2,71aA α	2,42bA β
----- SAM-017 -----		
50	5,99aA α	4,98abA α
75	5,54aA α	4,41bA α
100	3,61bB α	6,46aA α
----- SAM-018 -----		
50	5,04aA $\alpha\beta$	4,31aA α
75	3,62abA β	3,50aA α
100	2,93bA α	3,49aA β
CV(%)	29,06	

Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas, maiúsculas nas linhas e gregas entre acessos não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

TABELA 3 – Sobrevivência (%), comprimento de parte aérea (cm), comprimento de raiz (cm), número de brotos, número de folhas, massa seca (mg) de parte aérea e de raiz em função de diferentes substratos. São Cristóvão, UFS.

Substratos	SAM016	SAM 017	SAM 018
-----Sobrevivência (%)-----			
PCB	100,0aA	90,0aAB	70,0abB
PCBV (1:1)	100,0aA	100,0aA	90,0abA
PCBV (2:1)	100,0aA	100,0aA	65,0bB
VMS	100,0aA	100,0aA	95,0aA
VB	100,0aA	100,0aA	85,0abA
PCMS	100,0aA	80,0aA	95,0aA
CV(%)	14,90		
-----Altura de planta (cm)-----			
PCB	5,41aA	7,12dA	5,40cA
PCBV (1:1)	5,54aA	7,75dA	8,60bcA
PCBV (2:1)	5,16aC	14,81cdA	8,46bcB
VMS	11,82aB	31,33aA	17,78abB
VB	8,61aB	18,54bcA	5,23cB
PCMS	11,48aB	25,94abA	19,52aA
CV(%)	42,18		
-----Comprimento de raiz (cm)-----			
PCB	5,41bA	4,26cA	4,01bA
PCBV (1:1)	5,54bA	5,13bcA	5,93bA
PCBV (2:1)	5,16bA	5,79bcA	5,29bA
VMS	11,82aA	7,89abB	9,54aAB
VB	8,61abA	9,25aA	6,80abA
PCMS	11,37aA	5,52bcB	6,49bB
CV(%)	31,64		
-----Número de brotos-----			
PCB	2,13009aA	1,35aA	1,40aA
PCBV (1:1)	2,21aA	1,55aA	2,66aA
PCBV (2:1)	2,21aA	2,10aA	1,50aA
VMS	3,45aA	1,95aB	2,63aAB
VB	2,40aA	1,90aA	1,71aA
PCMS	3,85aA	1,28aB	2,25aB
CV(%)	45,93		
-----Massa seca de parte aérea (mg)-----			
PCB	17,12bA	21,84dA	21,25bA
PCBV (1:1)	35,92bA	38,15dA	41,65bA
PCBV (2:1)	15,04bB	106,30cA	39,38bB
VMS	98,80aC	367,20aA	152,21aB
VB	40,53bB	100,00cA	13,98bB
PCMS	90,38aC	233,51bA	150,33aB
CV(%)	30,45		

Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). PCB - Pó de coco + 1 g L⁻¹ de calcário + 12 g L⁻¹ de NPK (3-12-6); PCBV - Pó de coco + vermiculita (1:1 v/v) + 1 g L⁻¹ de calcário + 12 g L⁻¹ de NPK (3-12-6); PCBV - Pó de coco + vermiculita (2:1 v/v) + 1 g L⁻¹ de calcário + 12 g L⁻¹ de NPK (3-12-6); VMS - vermiculita + sais do MS; VB - vermiculita + 12 g L⁻¹ de NPK (3-12-6) e PCMS - Pó de coco + 1 g L⁻¹ de calcário + sais do MS.

Na variável número de brotos, para os acessos nos substratos, observa-se que o acesso SAM-016 obteve no geral as maiores médias. Entretanto, este acesso diferiu significativamente do SAM-017 apenas nos substratos VMS e PCMS, e do SAM-018, no substrato PCMS (Tabela 3). Resultados semelhantes foram obtidos para número de brotos com gerânio (*Pelargonium graveolens*), utilizando os mesmos substratos, exceto o VB e o PCMS (ARRIGONI-BLANK et al., 2011).

Em relação à massa seca de parte aérea, o acesso SAM-016 e o SAM-018, apresentaram uma maior biomassa quando cultivada nos substratos VMS e PCMS. Para o acesso SAM-017 o substrato VMS possibilitou um maior acúmulo de massa seca de parte aérea em relação aos demais substratos testados. O acesso SAM-017 apresentou no geral os maiores valores, se destacando dos demais em relação aos substratos avaliados, porém não deferindo do SAM-016 e SAM-018 nos substratos PCB e PCBV (1:1) (Tabela 3).

CONCLUSÕES

Os acessos SAM-016, SAM-017 e SAM-018 de *H. pectinata* podem ser micropropagados em 50% dos sais do MS na ausência de regulador de crescimento.

A aclimatização dos acessos de *H. pectinata* pode ser realizada utilizando o substrato pó de coco + 1 g L⁻¹ de calcário + sais do MS por ser economicamente mais viável.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Capes e ao CNPq pelo financiamento da pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARRIGONI-BLANK, M. F.; ALMEIDA, S. A.; OLIVEIRA, A. C. L.; BLANK, A. F. M. Micropropagação e aclimatização de gerânio (*Pelargonium graveolens* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. 13(3):271-275, 2011.
- ARRIGONI-BLANK, M.F.; COSTA, A.S.; FONSECA, V.O.; ALVES, P.B.; BLANK, A.F. Micropropagação, aclimatização, teor e composição química do óleo essencial de genótipos de hortelã japonesa. **Revista Ciência Agrônômica**. 42(1):175-184, 2011.
- ARRIGONI-BLANK, M.F.; SANTOS, A.V.; BLANK, A.F. Organogênese direta e aclimatização de plantas de patchouli. **Horticultura Brasileira**. 29(2):145-150, 2011.
- ASMAR, S.A.; RESENDE, R.F.; ARARUNA, E.C.; MORAIS, T.P.; LUZ, J.M.Q. Concentrações de BAP sobre a proliferação *in vitro* de brotos de *Lippia alba* [(Mill.) N.E.Brown]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. 14(spe):149-153, 2012.
- BERTOZZO, F.; MACHADO, I.S. Meios de cultura no desenvolvimento de ápices caulinares de mamoneira (*Ricinus communis* L.) *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**. 34(6):1477-1482, 2010.
- CHERUVATHUR, M.K.; ABRAHAM, J.; MANI, B.; THOMAS, T.D. Adventitious shoot induction from cultured intermodal explants of *Malaxis acuminata* D. Don, a valuable terrestrial medicinal orchid. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. 101(2):163-170, 2010.
- GARLET, T.M.B.; FLORES, R.; MESSCHMIDT, A.A. Influência de citocininas na micropropagação de *Mentha x gracilis* Sole. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. 13(1):30-34, 2011.
- GIRARDI, C.G.; PESCADOR, R. Aclimação de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e a relação com carboidratos endógenos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. 12(1):62-72, 2010.
- GOLLE, D.P.; REINIGER, L.R.S.; CURTIR, A.R.; LÉON, E.A.B. Estabelecimento e desenvolvimento *in vitro* de *Eugenia involucrata* DC.: Influência do tipo de explante e do meio nutritivo. **Ciência Florestal**. 22(1):207-214, 2012.
- JÚNIOR, R.F.G. MANTOVANI, C.; FARIA, R.T.; LEMOS, E.G.M. Concentrações de sacarose no desenvolvimento *in vitro* e na aclimatização de *Cattleya loddigesii* Lindley. **Semina: Ciências Agrárias**. 34(2):583-592, 2013.
- MONFORT, L.E.F.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; ROSSI, Z.T.T.; SANTOS, F.M. Efeito do BAP no cultivo *in vitro* de *Ocimum selloi* Benth. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. 14(3):458-463, 2012.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**. 15(3):473-479, 1962.

-
- NAVROSKI, M.C.I.; WALDOW, D.A.G.; REINIGER, L.R.S.; GOLLE, D.P.; CURTI, A.R.; PEREIRA, M.O. Multiplicação *in vitro* de segmentos apicais caulinares de segurelha (*Satureja hortensis* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. 16(1):117-121, 2014.
- NOMURA, E.S.; LIMA, J.D.; RODRIGUES, D.S.; GARCIA, V.A.; FUZITANI, E.J. Influência do substrato e do tipo de fertilizante na aclimatização de mudas de bananeira 'Prata-Anã'. **Ciência e Agrotecnologia**. 33(3):773-779, 2009.
- RAYMUNDO, L.J.R.P.; GUILHON, C.C.; ALVIANO, D.S. Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities of the *Hyptis pectinata* (L.) Poit essential oil. **Journal of Ethnopharmacology**. 134(3):725-732, 2011.
- SOARES, J.D.R.; PASQUAL, M.; RODRIGUES, F.A.; VILLA, F.; CARVALHO, J.G.; ARAUJO, A.G. Propagação *in vitro* de orquídea: iodeto de potássio e cloreto de cobalto em meio de cultura Knudson C. **Revista Ceres**. 58(3):273-277, 2011.

