

ARRIGONI-BLANK MF; SANTOS AV; BLANK AF. 2011. Organogênese direta e aclimatização de plantas de patchouli. *Horticultura Brasileira* 29: 145-150.

Organogênese direta e aclimatização de plantas de patchouli

Maria de Fátima Arrigoni-Blank; Aline V Santos; Arie F Blank

UFS-DEA, Av. Marechal Rondon s/n, Rosa Elze, 49100-000 São Cristóvão-SE; arrigoni@ufs.br; avs.ufs@gmail.com; afblank@ufs.br

RESUMO

O patchouli é uma espécie aromática cujo óleo essencial é largamente empregado pela indústria de perfumes. A propagação convencional desta espécie é por estaquia, sendo a micropropagação uma alternativa para propagação clonal de indivíduos livres de patógenos em larga escala. O objetivo deste trabalho foi analisar a influência de combinações de diferentes fontes de auxinas com cinetina sobre a organogênese de patchouli, assim como diferentes tipos de composição de substratos na aclimatização de mudas micropropagadas da espécie. Foram realizados dois ensaios para organogênese. No primeiro, avaliação de cinco concentrações de cinetina (0,0; 1,0; 2,0; 4,0 e 6,0 mg L⁻¹) e quatro concentrações de AIA (0,0; 0,5; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹) e no segundo, cinco concentrações de cinetina (0,0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L⁻¹) e três concentrações de ANA (0,0; 0,1 e 0,5 mg L⁻¹). Para aclimatização foram analisados os substratos: pó de coco + fertilizante formulado (NPK 3-12-6 + Ca, S, Zn, B, Cu, Fe, Mn e B a 3,0; 2,5; 0,1; 0,025; 0,01; 0,075; 0,05 e 0,0015%, respectivamente) na concentração de 12 g L⁻¹ + calcário (1 g L⁻¹) [PBC]; pó de coco + vermiculita (2:1) + fertilizante formulado na concentração de 12 g L⁻¹ + calcário (1 g L⁻¹) [PBCV (2:1)]; pó de coco + vermiculita (1:1) + fertilizante formulado na concentração de 12 g L⁻¹ + calcário (1 g L⁻¹) [PBCV (1:1)]; pó de coco + 1 g L⁻¹ de calcário + sais do MS [PCMS]; vermiculita acrescido de sais do MS, sendo 15 mL da mistura de sais por planta [VMS]; vermiculita + fertilizante formulado na concentração de 12 g L⁻¹ [VMB]. Neste estudo foi observado que a organogênese direta pode ser promovida em meio MS acrescido de 2,47 mg L⁻¹ de cinetina e 0,1 mg L⁻¹ de ANA, sendo as etapas de alongamento, individualização e enraizamento das brotações promovidas em meio MS básico. Já para aclimatização um dos melhores resultados foi obtido com o substrato PBCV (1:1).

Palavras-chave: *Pogostemon cablin*, planta aromática, micropropagação, substratos.

ABSTRACT

Direct organogenesis and acclimatization of patchouli

Patchouli is an aromatic species whose essential oil is largely employed by perfume industry. This conventional propagation is carried out using cuttings. Micropropagation is an alternative for clonal propagation of pathogens free individuals in large scale. We analyzed the influence of different combinations of auxins and kinetin in patchouli organogenesis and different kinds of substrate mixtures for the acclimatization of micropropagated plantlets. Two tests of organogenesis induction were carried out. In the first, five kinetin concentrations (0.0; 1.0; 2.0; 4.0 and 6.0 mg L⁻¹) and four IAA concentrations (0.0; 0.5; 1.0 and 2.0 mg L⁻¹) were tested, and in the second, five kinetin concentrations (0.0; 0.5; 1.0; 2.0 and 4.0 mg L⁻¹) and three NAA concentrations (0.0; 0.1 and 0.5 mg L⁻¹). For acclimatization the following substrates were analyzed: coconut dust + formulated fertilizer (NPK 3-12-6 + Ca, S, Zn, B, Cu, Fe, Mn and B at 3.0; 2.5; 0.1; 0.025; 0.01; 0.075; 0.05 and 0.0015%, respectively) at the concentration of 12 g L⁻¹ + limestone (1 g L⁻¹) [PBC]; coconut dust + vermiculite (2:1) + formulated fertilizer at the concentration of 12 g L⁻¹ + limestone (1 g L⁻¹) [PBCV (2:1)]; coconut dust + vermiculite (1:1 v/v) + formulated fertilizer at the concentration of 12 g L⁻¹ + limestone (1 g L⁻¹) [PBCV (1:1)]; coconut dust + limestone (1 g L⁻¹) + MS salts [PCMS]; vermiculite added with MS salts, using 15 mL of the salt mixture per plant [VMS]; vermiculite + formulated fertilizer at the concentration of 12 g L⁻¹ [VMB]. Direct organogenesis can be promoted by MS medium supplemented with 2.47 mg L⁻¹ of kinetin and 0.1 mg L⁻¹ of NAA. The shoot elongation, individualization and shoot rooting steps, however, were promoted in MS medium without growth regulators. For acclimatization one of the best results was obtained using PBCV (1:1).

Keywords: *Pogostemon cablin*, aromatic plant, micropropagation, substrates.

(Recebido para publicação em 18 de maio de 2010; aceito em 25 de março de 2011)

(Received on May 18, 2010; accepted on March 25, 2011)

O patchouli (oriza, patcholi ou patchuli) é uma espécie aromática pertencente à família Lamiaceae que possui grande valor comercial, devido ao óleo essencial extraído de suas folhas. É originária da Malásia, Filipinas e sul da Índia, porém, devido ao seu valor comercial, tem sido cultivada em várias partes do mundo. Os maiores produtores

do óleo essencial de patchouli são Indonésia, Índia, China, Malásia e América do Sul (Donelian, 2004), sendo que o Brasil produz aproximadamente 12 t ano⁻¹ (Bizzo *et al.*, 2009).

O óleo essencial de patchouli é largamente empregado na indústria de perfumes, ocupando posição proeminente nesta indústria, por ser utilizado

para dar um caráter básico e duradouro a fragrância (Kukreja *et al.*, 1990). Por esse poder fixador de aromas o óleo essencial também é utilizado na fabricação de cosméticos e sabonetes (Dichoso, 2000).

Além das propriedades aromáticas, o óleo essencial de patchouli é utilizado também por suas propriedades medici-

nais. Atualmente numerosas pesquisas têm demonstrado as atividades farmacológicas deste óleo, destacando-se as propriedades antieméticas, atividade tripanocida, antibacteriana, antifúngica e de antagonista do Ca^{+2} (Zhao *et al.*, 2005). Sendo que as propriedades antifúngicas e bacteriostáticas apresentadas são atribuídas aos ácidos dehidroacéticos presentes no mesmo (Kukreja *et al.*, 1990).

O cultivo de patchouli apresenta alguns problemas que afetam a produção de biomassa e o rendimento do óleo essencial. O baixo rendimento do óleo essencial deve-se à suscetibilidade da planta a diversos tipos de vírus e ao nematóide *Meloydogine incognita* (Kukreja *et al.*, 1990). Assim, a propagação *in vitro* é uma alternativa viável para obtenção de plantas livres de patógenos e, também, possibilita a propagação em larga escala em um período de tempo relativamente curto, através da técnica de micropropagação.

A micropropagação culmina com a aclimatização, uma fase em que ocorre a transferência das mudas produzidas *in vitro* para o ambiente externo, à casa de vegetação e, posteriormente, para o campo. A aclimatização é constituída basicamente de duas etapas: o enraizamento (*in vitro* e *in vivo*) e a transferência para condições não estéreis com temperatura e umidade controladas. Este processo de aclimatização é influenciado por diversos fatores como o tipo de substrato utilizado, a qualidade das raízes formadas *in vitro*, o genótipo, o estresse hídrico, alteração do metabolismo heterotrófico (*in vitro*) para autotrófico, infecção por patógenos, estresse pela luz, além das possíveis variações de temperatura (Silva *et al.*, 2003).

O objetivo deste trabalho foi analisar a influência de combinações de diferentes fontes de auxinas com cinetina sobre a organogênese de patchouli, assim como diferentes tipos de composição de substratos na aclimatização de mudas micropropagadas da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Micropropagação - Os ensaios foram conduzidos em laboratório de cultura de tecidos da Universidade

Federal de Sergipe, município de São Cristóvão-SE.

O meio de cultura utilizado nos ensaios foi o meio básico MS, proposto por Murashige & Skoog (1962), acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, 7 g L⁻¹ de ágar e o pH ajustado para 6,0±0,1 antes da autoclavagem (121±1°C e 1,05 atm por 15 minutos). Como fonte de explantes foram utilizados segmentos foliares obtidos de plântulas de patchouli, acesso POG-014 do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de *Pogostemon* da UFS, estabelecidas *in vitro* e seccionados com cerca de 1 cm².

Para o primeiro ensaio empregou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 5x4, sendo cinco concentrações de cinetina (0,0; 1,0; 2,0; 4,0 e 6,0 mg L⁻¹) e quatro concentrações de AIA (0,0; 0,5; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹), com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por quatro frascos contendo dois explantes cada.

No segundo ensaio utilizou-se o DIC em esquema fatorial 5x3, sendo cinco concentrações de cinetina (0,0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L⁻¹) e três concentrações de ácido naftalenoacético (ANA) (0,0; 0,1 e 0,5 mg L⁻¹), com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por quatro frascos contendo dois explantes cada.

Para os dois ensaios foram avaliadas aos 40 dias as variáveis, regeneração de brotos (%), número de brotos, comprimento de brotos (cm) e massa seca de parte aérea (mg). O comprimento de brotos foi obtido com o auxílio de uma régua, enquanto que a massa seca foi obtida utilizando estufa com fluxo de ar forçado a uma temperatura de 80°C até peso constante, conseguido através de pesagem em balança semi-analítica. Os resultados foram submetidos à análises de variância pelo teste F e, quando significativas, regressão polinomial.

Aclimatização - Mudas micropropagadas e enraizadas foram transferidas para bandejas de poliestireno expandido, com 72 células contendo os substratos: pó de coco + fertilizante formulado (NPK 3-12-6 + Ca, S, Zn, B, Cu, Fe, Mn e B a 3,0; 2,5; 0,1; 0,025; 0,01; 0,075; 0,05 e 0,0015%, respectivamente) na concentração de 12 g L⁻¹ + calcário (1 g L⁻¹) [PBC]; pó de coco + vermiculita

(1:1) + fertilizante formulado (12 g L⁻¹) + calcário (1 g L⁻¹) [PBCV (1:1)]; pó de coco + vermiculita (2:1) + fertilizante formulado (12 g L⁻¹) + calcário (1 g L⁻¹) [PBCV (2:1)]; pó de coco + 1 g L⁻¹ de calcário + sais do MS (100%) [PCMS]; vermiculita acrescido de sais do MS (100%), sendo 15 mL da mistura de sais por planta [VMS]; vermiculita + 12 g L⁻¹ de fertilizante formulado [VMB]. O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado com cinco repetições e quatro mudas por repetição. Aos 25 dias avaliaram-se as variáveis, sobrevivência (%), altura, comprimento de raiz (cm), número de folhas, número de brotos, massa seca de parte aérea e raiz (g). As medidas de altura e comprimento de raiz foram obtidas com o auxílio de uma régua, enquanto que a obtenção de massa seca foi obtida utilizando estufa com fluxo de ar forçado a uma temperatura de 80°C até peso constante, conseguido através de pesagem em balança semi-analítica. Os resultados foram submetidos a análises de variância pelo teste F e, quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Micropropagação - No primeiro ensaio a análise de regressão polinomial para os níveis de cinetina apresentou um efeito quadrático para a variável porcentagem de regeneração; variou de 39,17 a 99,17%, sendo a concentração de 2,5 mg L⁻¹ a que promove uma regeneração de 100% dos explantes (dados não apresentados). Foi observada regeneração de plantas através de organogênese direta com o uso de cinetina, um resultado que contrasta com diversos trabalhos realizados com a espécie e onde o uso desse regulador de crescimento induziu a calogênese (Kukreja *et al.*, 1990; Rajan & Shakila, 1997; Vijayalalitha, 1998). A divergência dos resultados é dada uma vez que a organogênese direta é altamente dependente da interação entre as substâncias endógenas e reguladores de crescimento adicionados ao meio, além do genótipo.

A variável comprimento de brotos também mostrou um efeito quadrático para cinetina, onde foi observada varia-

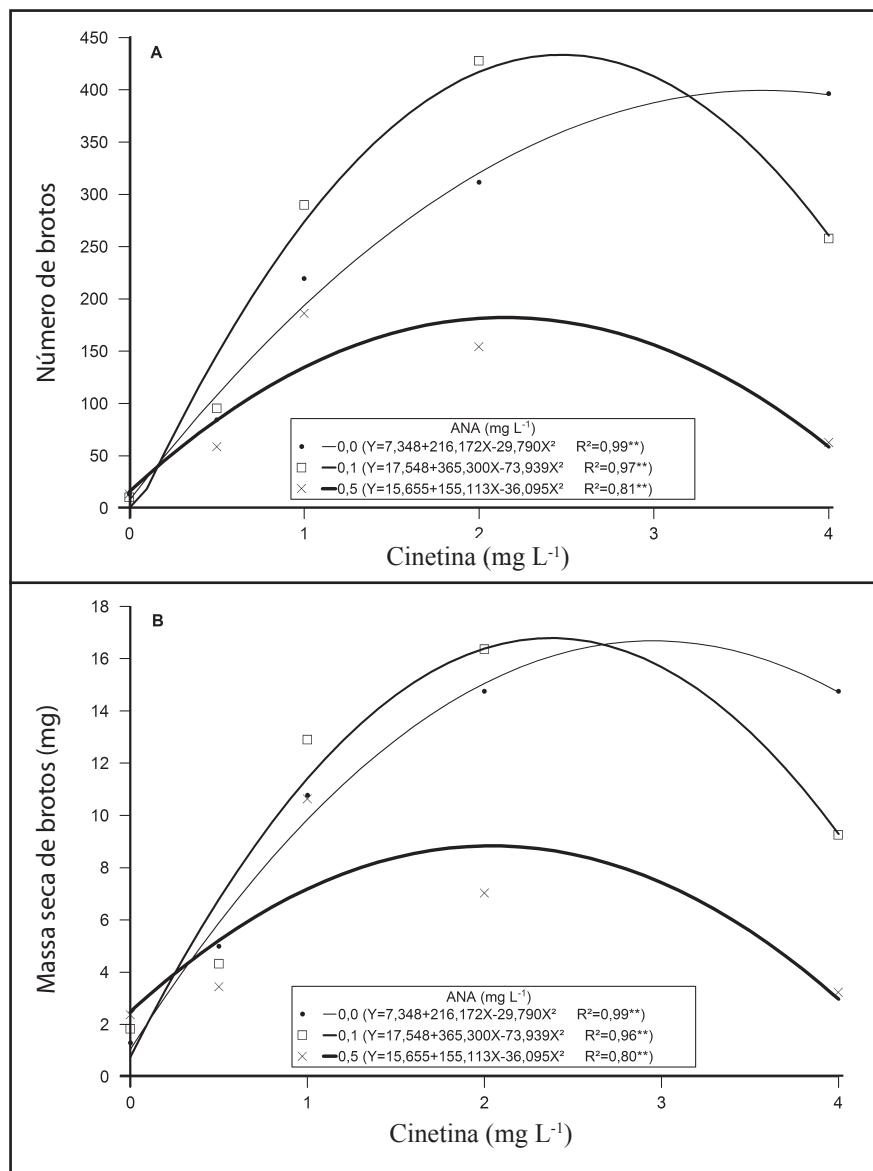


Figura 1. Valores médios de número de brotos por explante (A) e massa seca de brotos (B) do acesso POG-014 de patchouli, em função da interação de cinetina e ANA (average values of shoot number per explants (A) and shoot dry weight (B) of patchouli accession POG-014, as a function of kinetin and NAA concentrations). São Cristóvão, UFS, 2008.

ção entre 0,13 e 0,45 cm, sendo o maior valor (0,54 cm) proporcionado pela concentração de 2,6 mg L⁻¹ (dados não apresentados). O maior comprimento de brotos em patchouli, observado por Misra (1996), foi de 1,67 cm em meio MS suplementado de 1,0 mg L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP); já com o uso de cinetina as brotações apresentaram um comprimento máximo de 1,3 cm.

No segundo ensaio a interação de cinetina e ANA foi significativa para a variável número de brotos (Figura 1A). A maior quantidade de brotos por explante (433,65) pode ser adquirida

utilizando 2,47 mg L⁻¹ de cinetina e 0,1 mg L⁻¹ de ANA. Embora este valor esteja abaixo daquele obtido por Misra (1996) de 793 brotos por grama de calos, após a transferência para o meio MS acrescido de 1,0 mg L⁻¹ de BAP, é importante ressaltar que a obtenção de brotações, através da organogênese indireta, pode levar à ocorrência de variação somaclonal indesejável para propagação clonal, sendo a organogênese direta altamente desejável para as espécies de um modo geral.

Para massa seca de brotos, todas as concentrações de cinetina analisadas

promoveram um efeito quadrático (Figura 1B). O melhor resultado foi obtido utilizando 2,38 mg L⁻¹ de cinetina e 0,1 mg L⁻¹ de ANA.

No primeiro ensaio, para todas as variáveis analisadas, houve interação significativa entre cinetina e AIA. Em relação à regeneração de plantas a utilização de cinetina 0,0 a 6,0 mg L⁻¹ e ausência de AIA apresentou um efeito linear positivo, proporcionando regeneração máxima (100%) nas doses mais elevadas. Nas demais concentrações de AIA houve um efeito cúbico, obtendo-se a máxima regeneração (100%) com 1,0 mg L⁻¹ de cinetina e 0,5 a 1,0 mg L⁻¹ de AIA (Figura 2A-B), resultados que contrastam com alguns trabalhos realizados com a mesma espécie e os mesmos reguladores de crescimento, onde houve a indução de calos (Rajan & Shakila, 1997; Vijayalalitha, 1998). Rajan & Shakila (1997) obtiveram máxima indução de calo com o uso de 1,0 mg L⁻¹ de AIA e 5,0 mg L⁻¹ de cinetina. Vijayalalitha (1998) alcançou o mesmo resultado usando AIA de 1,0-2,5 mg L⁻¹ e cinetina de 4,0-5,5 mg L⁻¹.

O valor máximo de 124,5 brotos por explante pode ser obtido com 1,0 mg L⁻¹ de cinetina, acrescido de 0,90 mg L⁻¹ de AIA (Figura 2C-D). Resultados divergentes foram obtidos por Kukreja *et al.* (1990), testando diferentes citocininas na regeneração de patchouli, constataram que a cinetina foi a menos eficiente entre as citocininas testadas, obtendo valores máximos de 50-60 brotos por explante. Segundo estes mesmos autores foi constatado que, enquanto a cinetina favoreceu a regeneração indireta de brotos, as demais citocininas testadas (BAP e 2iP) induziram diretamente a proliferação de brotos.

O valor máximo de 0,55 cm de comprimento de brotos pode ser adquirido com 4,6 mg L⁻¹ de cinetina e 0,96 mg L⁻¹ de AIA (Figura 2E-F). Em *Salvia nemorosa*, o maior comprimento de brotos (1,7 cm) foi obtido com a utilização de meio MS acrescido de 0,9 μM de BAP e 2,9 μM de AIA via organogênese direta de explante foliar (Skala & Wysikinska, 2004). Na análise comparativa dos experimentos discutidos no presente estudo é possível afirmar que a combinação de cinetina

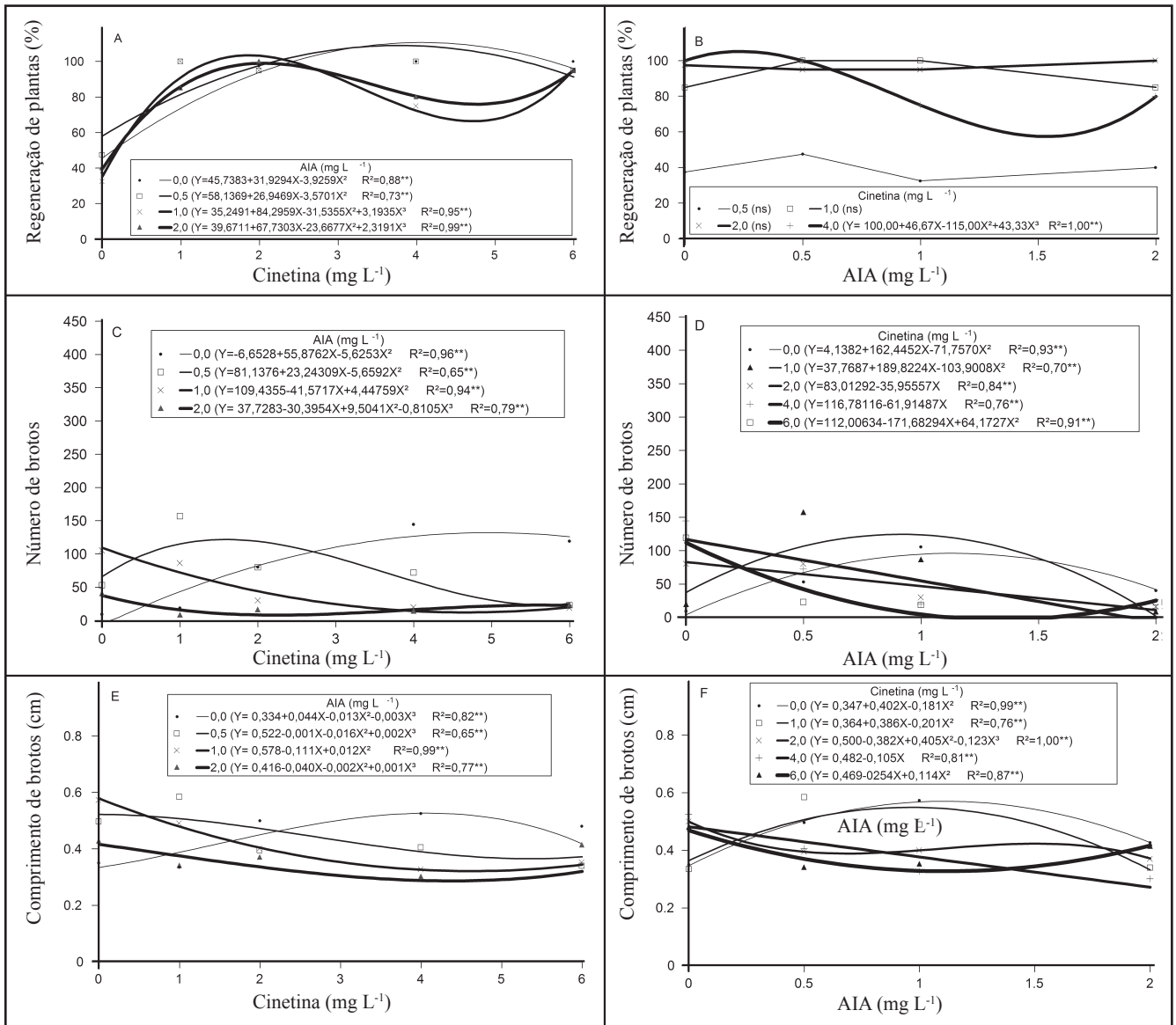


Figura 2. Valores médios de regeneração de plantas (A-B), número de brotos por explante (C-D) e comprimento de brotos (E-F) do acesso POG-014 de patchouli, em função da interação de cinetina e AIA (average values of aboveground part regeneration (A-B), number of shoots per explants (C-D) and shoot length (E-F) of patchouli accession POG-014, as a function of the kinetin and IAA interaction). São Cristóvão, UFS, 2008.

e ANA foi mais eficiente para indução de brotos, através de explante foliar em patchouli, pois proporcionou maior porcentagem de regeneração, número e comprimento de brotos. Deste modo a organogênese direta pode ser promovida por meio MS acrescido de 2,47 mg L⁻¹ de cinetina e 0,1 mg L⁻¹ de ANA. As etapas de alongamento, individualização e enraizamento das brotações ocorreram em meio MS básico sem adição de reguladores de crescimento. Este resultado difere de vários trabalhos realizados com a mesma espécie que requerem o uso de reguladores de crescimento

para o alongamento e enraizamento de brotações (Kukreja *et al.*, 1990; Misra, 1996; Rajan & Shakila, 1997; Kumar & Chawla, 2007). Para um eficiente protocolo de micropropagação de patchouli este resultado representa uma grande vantagem, pois permite a obtenção de mudas em grande quantidade, comprovada identidade genética (ao contrário daquelas obtidas através de calos, que podem conter variação somaclonal) e com menor custo de produção.

Aclimatização - A sobrevivência média das mudas de patchouli variou de 95 a 100%, não havendo diferença

significativa entre os substratos analisados. Para altura de plântulas o substrato constituído de vermiculita acrescido de saís do MS proporcionou maior média de altura de plantas (13,35 cm) (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos para altura de plântulas com *Pelargonium graveolens*, utilizando o mesmo substrato (Oliveira *et al.*, 2007).

O substrato vermiculita acrescido do fertilizante formulado proporcionou raízes mais compridas (15,5 cm), não diferindo significativamente dos substratos PBC, PBCV (1:1) e PBCV (2:1) (Tabela 1). Em relação ao número

Tabela 1. Valores médios de sobrevivência, altura de planta, comprimento de raiz, número de folhas e de brotos e massa seca de parte aérea e raiz de plantas micropropagadas de patchouli, em função dos diferentes substratos para aclimatização (average values of survival, plant height, root length, number of leaves and shoots and dry weight of leaves, stalks and roots of micropropagated patchouli plants, as a function of different substrates for acclimatization). São Cristóvão, UFS, 2008.

Substrato	Sobrevivência (%)	Altura de plantas (cm)	Comprimento de raiz (cm)	Folhas (n°)	Brotos (n°)	Massa seca (g)	
						Parte aérea	Raiz
PBC	100,0 a	8,2 bc	12,2 abc	26,1 a	9,1 a	0,17 bc	0,03 b
PBCV (1:1)	95,0 a	8,2 bc	13,7 ab	23,1 ab	6,2 ab	0,22 b	0,05 ab
PBCV (2:1)	100,0 a	7,7 bc	13,0 ab	13,4 bc	5,7 ab	0,15 bc	0,06 a
PCMS	100,0 a	6,3 c	11,8 bc	10,1 c	2,7 b	0,14 c	0,03 b
VMS	100,0 a	13,3 a	8,9 c	28,2 a	8,3 ab	0,22 bc	0,04 ab
VMB	95,0 a	8,9 b	15,4 a	26,1 a	6,9 ab	0,34 a	0,05 ab
CV (%)	6,56	13,91	13,88	24,83	27,67	20,64	25,71

Médias com a mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$) (means followed by the same letter in the columns did not differ from each other by the Tukey test, $p \leq 0,05$); PBC= pó de coco + fertilizante formulado (NPK 3-12-6 + Ca, S, Zn, B, Cu, Fe, Mn e B a 3,0; 2,5; 0,1; 0,025; 0,01; 0,075; 0,05 e 0,0015%, respectivamente) na concentração de 12 g L⁻¹ + calcário (1 g L⁻¹); PBCV (1:1)= pó de coco + vermiculita (1:1) + fertilizante formulado na concentração de 12 g L⁻¹ + calcário (1 g L⁻¹); PBCV (2:1)= pó de coco + vermiculita (2:1) + fertilizante formulado na concentração de 12 g L⁻¹ + calcário (1 g L⁻¹); PCMS= pó de coco + calcário (1 g L⁻¹) + sais do MS; VMS= vermiculita acrescido de sais do MS (15 mL planta⁻¹); VMB= vermiculita + fertilizante formulado na concentração de 12 g L⁻¹ (PBC= coconut dust + formulated fertilizer (NPK 3-12-6 + Ca, S, Zn, B, Cu, Fe, Mn and B at 3.0; 2.5; 0.1; 0.025; 0.01; 0.075; 0.05 and 0.0015%, respectively) at the concentration of 12 g L⁻¹ + limestone (1 g L⁻¹); PBCV (1:1)= coconut dust + vermiculite (1:1 v/v) + formulated fertilizer at the concentration of 12 g L⁻¹ + limestone (1 g L⁻¹); PBCV (2:1)= coconut dust + vermiculite (2:1) + formulated fertilizer at the concentration of 12 g L⁻¹ + limestone (1 g L⁻¹); PCMS= coconut dust + lime stone (1 g L⁻¹) + sais do MS; VMS= vermiculite added with MS salts, using 15 mL of the salt mixture per plant; VMB= vermiculite + formulated fertilizer at the concentration of 12 g L⁻¹).

de folhas por planta, os maiores valores foram observados com o uso dos substratos PBC, PBCV (1:1), VMS e VMB que não diferiram estatisticamente entre si. O resultado menos expressivo em número de brotos foi obtido com o substrato PCMS, porém não diferindo significativamente dos demais substratos, com exceção do PBC (Tabela 1). Analisando a massa seca de parte aérea, observa-se que os maiores valores foram promovidos pelo substrato VMB. Já para massa seca de raiz, os melhores resultados foram proporcionados pelo substrato PBCV (2:1), não diferindo dos substratos PBCV (1:1), VMS e VMB (Tabela 1). O emprego de resíduos agroindustriais como o pó de coco em substratos para aclimatização também propiciou bons resultados em *Mentha viridis* (Lima *et al.*, 2007).

Em hortelã-japonesa (*Mentha arvensis*) não houve diferenças significativas para número de brotos, massa seca de raiz e parte aérea com a utilização dos mesmos substratos avaliados neste trabalho, com exceção do PCMS e VMB (Fonseca *et al.*, 2008). Diversos trabalhos comprovam a marcante influência do tipo de substrato utili-

zado no processo de aclimatização de plantas micropropagadas. O substrato exerce sua influência de acordo com suas características químicas, físicas e biológicas, tais como o pH, a porosidade, a capacidade de retenção de água, a flora bacteriana entre outros. Entre os substratos, a vermiculita e o pó de coco apresentam bons resultados para aclimatização de algumas espécies (Silva *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2008; Rocha *et al.*, 2008).

Diante dos resultados obtidos recomenda-se o uso do substrato pó de coco + vermiculita (1:1) + fertilizante formulado (NPK 3-12-6 + Ca, S, Zn, B, Cu, Fe, Mn e B a 3,0; 2,5; 0,1; 0,025; 0,01; 0,075; 0,05 e 0,0015%, respectivamente) (12 g L⁻¹) + calcário (1 g L⁻¹) [PBCV (1:1)] para aclimatização de patchouli, em virtude de ter apresentado melhores resultados para as variáveis analisadas e pelo fácil acesso e baixo custo do pó de coco na região nordeste. Além destes fatores, com o consumo do pó de coco como substrato agrícola contribui-se para redução do lançamento desse resíduo ao meio ambiente (Bezerra & Rosa, 2002).

Foi observado que a organogênese

direta pode ser promovida em meio MS acrescido de 2,47 mg L⁻¹ de cinetina e 0,1 mg L⁻¹ de ANA, sendo as etapas de alongamento, individualização e enraizamento das brotações promovidas em meio MS básico. Já para aclimatização um dos melhores resultados foi obtido com o substrato PBCV (1:1).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPITEC-SE pelo financiamento da pesquisa e pela bolsa de mestrado do segundo autor, assim como ao CNPq pela bolsa de produtividade do terceiro autor.

REFERÊNCIAS

- BEZERRA FC; ROSA MF. 2002. *Utilização do pó da casca de coco-verde como substrato para produção de mudas de alface*. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. 4 p. (Comunicado Técnico 71)
- BIZZO HR; HOVELL AMC; REZENDE CM. 2009. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. *Química Nova* 32: 588-594.
- DICHOSO WC. 2000. Plant species with essential oil for perfume production. *Research Information Series on Ecosystems* 12: 1-16.
- DONELIAN A. 2004. Extração do óleo essencial

- de patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] utilizando dióxido de carbono supercrítico. Florianópolis: UFSC. 142p (Tese mestrado).
- FONSECA VO; COSTA AS; ARRIGONI-BLANK MF; BLANK AF; ALVES PB; SANTANA THB. 2008. Micropropagação, aclimatização e composição química do óleo essencial de hortelã japonesa (*Mentha arvensis* L.). *Plant Cell Culture & Micropropagation* 4: 8-14.
- KUKREJA AK; MATHUR AK; ZAIM M. 1990. Mass production of virus-free patchouli plants [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] by *in vitro* culture. *Tropical Agriculture* 67: 101-104.
- KUMAR V; CHAWLA HS. 2007. Organogenic regeneration from different explants of patchouli (*Pogostemon cablin*). *The Indian Journal of Genetics & Plant Breeding* 67: 187-189.
- LIMA CSM; BANDEIRA JM; RUBIN S; RIBEIRO MV; FIGUEIREDO PM; PETERS JA; BRAGA EJB. 2007. Substratos para aclimatização de plantas micropropagadas de *Mentha viridis* L. *Revista Brasileira de Biociências* 5: 672-674.
- MISRA M. 1996. Regeneration of patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) plants from leaf and node callus, and evaluation after growth in the field. *Plant Cell Reports* 15: 991-994.
- MURASHIGE T; SKOOG F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- OLIVEIRA ACL; ARRIGONI-BLANK MF; COSTA AS; OLIVEIRA AMS; FONSECA VO; BLANK AF. 2007. Aclimatização de mudas micropropagadas de gerânio (*Pelargonium graveolens* L.). *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental* 23: 770-772.
- OLIVEIRA JP; COSTA FHS; PEREIRA JES. 2008. Crescimento de mudas micropropagadas de bananeira aclimatizadas nas condições da amazônia sul ocidental sob a influência de diferentes substratos e recipientes. *Revista Brasileira de Fruticultura* 30: 459-465.
- RAJAN GB; SHAKILA A. 1997. Propagation of *Pogostemon patchouli* hook through tissue culture. *Biotechnology of spices medicinal and aromatic plants* 24: 56-59.
- ROCHA MAC; COSTA MAPC; SILVA SA; LEDO CAS; MOREIRA, MJS; BASTOS LP. 2008. Enraizamento *in vitro* e aclimatização de genótipos de jenipapeiro (*Genipa americana* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura* 30: 769-774.
- SILVA AB; PASQUAL M; MACIEL ALR; DUTRA LF. 2003. BAP e substratos na aclimatização de plântulas de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.) provenientes de cultura de tecidos. *Ciência e Agrotecnologia* 27: 255-260.
- SILVA JV; HERNANDEZ FFF; BEZERRA FC; DINIZ JDN. 2007. Aclimatização “*ex vitro*” de mudas de antúrio em diferentes substratos. *Revista Ciência Agronômica* 38: 188-191.
- SKALA EWA; WYSOKINSKA H. 2004. *In vitro* regeneration of *Salvia nemorosa* L. from shoot tips and leaf explants. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 40: 596-602.
- VIJAYALALITHA SJ. 1998. Induction of callus as influenced by explants and growth regulators in culture media *in vitro* culture of patchouli (*Pogostemon patchouli* Pellet.). *Advances in Plant Sciences* 11: 89-94.
- ZHAO Z; LU J; LEUNG K; CHAN CL; JIANG ZH. 2005. Determination of patchoulic alcohol in herba pogostemonis by GC-MS-MS. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 53: 856-860.