

MICROPROPAGAÇÃO

CULTIVO *IN VITRO* DE SEGMENTOS NODAIS DE HORTELÃ

As mentas ou hortelãs são plantas perenes, raramente anuais, que se expandem mediante estolões. O fenômeno de hibridização interespecífica, que ocorre naturalmente, dificulta a caracterização das espécies, classificadas no gênero *Mentha* (família Lamiaceae).

Originárias do Mediterrâneo, as mentas foram introduzidas na Europa pelos Romanos.



Em medicina natural, a menta é utilizada em tisanas, infusões e cataplasmas por suas propriedades estimulantes, carminativas e antiespasmódicas.

Devido a seu aroma e sabor característicos a menta é muito apreciada na culinária. Tanto o seu óleo essencial como o mentol são flavorizantes populares na indústria cosmética e de alimentos (balas e chocolates).

Por outro lado, as propriedades inseticidas do óleo essencial explicam sua inclusão como plantas companheiras na agricultura orgânica.

No Brasil, as espécies mais comuns são a *Mentha spicata* ou hortelã comum (na foto acima), a *Mentha piperita* ou hortelã pimenta, e a *Mentha pulegium* ou poejo.

BIBLIOGRAFIA

ACADÉMIE DE TOULOUSE. Culture *in vitro* de la menthe.

http://pedagogie.ac-toulouse.fr/svt/serveur/lycee/st_gaudens/menthe/civmenth.html

HORTAS. www.hortas.info

MALAJOVICH M.A. e MANN V.S. Micropropagação. Guia 80: *Micropropagação no laboratório de ensino*; Guia 85: *A desinfecção dos instrumentos*; Guia90: *A desinfecção dos explantes* e Guia 96: *Os meios de cultivo*. <http://www.bteduc.bio.br>

ATIVIDADE PRÁTICA

OBJETIVO

Cultivo *in vitro* da hortelã (*Mentha piperita*) a partir de segmentos nodais.

MATERIAIS

Uma planta de hortelã, azulejo, faca, 1 frasco com água sanitária diluída à metade, 3 frascos com água estéril, 6 tubos de ensaio ou frascos pequenos contendo meio nutriente* estéril, palitos estéreis, bico de Bunsen (opcional).

* O meio nutriente (Murashige&Skoog, Taji ou Knop) é uma solução de sais minerais às quais se adiciona sacarose (1 a 5%), ágar (0,7%) e água de coco, como indicado nos Guias 111: *Micropropagação: meios clássicos* e 112: *Micropropagação: meios alternativos*.

PROCEDIMENTO

A limpeza do lugar de trabalho é fundamental, assim como a higiene das mãos. O lugar de trabalho será desinfetado com álcool 70^o. Os participantes lavarão muito bem as mãos e os antebraços com água e sabão, antes de passar álcool 70^o. Cuidado! O álcool é inflamável. Esterilizar o material contaminado antes de descartá-lo.



A. ESTABELECIMENTO DE UMA CULTURA ASSÉPTICA

1. Separação dos explantes

Em um azulejo bem limpo, cortar segmentos do caule da hortelã contendo um nó e eliminar as folhas. Lavar os explantes.

2. Desinfecção da superfície dos explantes

Passar rapidamente o material por álcool 70^o e imergir o explante durante 10 minutos, em uma solução de água sanitária diluída à metade adicionada de 1 gota de detergente. Agitar suavemente durante todo o processo de desinfecção.

3. Lavagens em água destilada estéril

Fazer três lavagens de 1, 3 e 5 minutos, com agitação suave.

MICROPROPAGAÇÃO / CULTIVO IV DE SEGMENTOS NODAIS DE HORTELÃ

4. Estabelecimento da cultura

Em condições assépticas, transferir os explantes aos recipientes com meio nutriente.



5. Incubação

A 20-28°C, na luz.

6. Acompanhamento

Registrar semanalmente as observações.



MICROPROPAGAÇÃO / CULTIVO IV DE SEGMENTOS NODAIS DE HORTELÃ

B. REGENERAÇÃO DA PLANTA

Havendo crescimento, transferir os explantes a um meio de enraizamento sem água de coco. Sempre em condições assépticas.

Uma vez as raízes desenvolvidas e antes de transferir a planta para o solo, eliminar por lavado o ágar. Controlar a humidade por um tempo e proteger as plantas da iluminação solar direta até sua adaptação às condições ambientais.

NOSSO COMENTÁRIO

A hortelã comprada no comércio vem muito suja e a pesar do cuidado na desinfecção dos explantes, tivemos um alto número de contaminações. Para contornar esse problema, semeamos *Mentha piperita* em um vaso e retiramos o segmentos nodais das plantas que se desenvolveram (Figura 1).

O protocolo pode ser simplificado. A hortelã não é uma planta exigente e também se desenvolve bem em meio de Knop adicionado de água de coco ou, inclusive, em um meio só com água de coco a 50%. Contudo, até crescerem as folhas é conveniente manter as plântulas em um meio com açúcar.

Em relação à esterilização, pode-se substituir a água destilada estéril dos lavados por Clor-in 10. O único inconveniente é que os explantes ficam grudados sendo necessário usar um palito estéril para desgrudá-los da pinça. Resulta mais fácil se o trabalho for realizado em dupla.

COMO MONTAR UM PROJETO

Comparar o crescimento com diferentes meios.

Cultivar *in vitro* outras variedades de hortelã, tais como *Mentha pulegium* ou poejo.

MICROPROPAGAÇÃO / CULTIVO IV DE SEGMENTOS NODAIS DE HORTELÃ

Figura 1. As plantas de hortelã testadas neste experimento.

A. *Mentha piperita* (sementes comerciais).



B. *Mentha spicata* (comprada em feira livre)

