

SISTEMA DE VENTILAÇÃO NATURAL NO CULTIVO *in vitro* DE BASTÃO-DO-IMPERADOR

Jéssica Azevedo Batista¹

Priscila Pereira Botrel²

Adriano Bortolotti Silva³

Anna Lygia Rezende Maciel⁴

Agroecologia e Produção Agrícola Sustentável

Resumo

Geralmente, a propagação de bastão-do-imperador é vegetativa, podendo resultar na introdução de patógenos nos campos de produção. Assim, o presente trabalho teve por objetivo verificar a multiplicação e o crescimento de bastão-do-imperador *in vitro*, em diferentes sistemas de micropropagação, sendo cultivado em sistema de ventilação natural e convencional, em diferentes concentrações de BAP. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2, sendo três concentrações de BAP (0,0; 2,0 e 4,0 mg L⁻¹) e dois sistemas de cultivo (Sistema de micropropagação convencional e sistema de ventilação natural), com quatro repetições e três plantas por parcela. Após 45 dias; após esse período, foram avaliados: o comprimento da parte aérea e raiz (mm), o número de folhas, o número de brotações, a massa fresca e a seca da planta e teor de clorofila. O sistema de ventilação natural promove maior crescimento, e maior teor de pigmentos fotossintéticos em plantas de bastão-do-imperador cultivadas *in vitro*.

Palavras-chave: micropropagação; *Etilingera elatior*; membrana porosa; benzilaminopurina

¹ Me. Laboratorista Química,, IFSULDEMINAS, Campus Muzambinho – Laboratório de Biotecnologia: Cultura de Tecidos Vegetal, batistaja7@gmail.com.

²Prof. Dr. IFSULDEMINAS, Campus Muzambinho – Laboratório de Biotecnologia: Cultura de Tecidos Vegetal, Priscila.botrel@muz.ifsuldeminas.edu.br

³Prof. Dr. UNIFENAS, Campus Alfenas – Laboratório de Biotecnologia Vegetal, adriano.silva@unifenas.edu.br

⁴Prof. Dr. IFSULDEMINAS, Campus Muzambinho – Laboratório de Biotecnologia: Cultura de Tecidos Vegetal, anna.lygia@muz.ifsuldeminas.edu.br.

INTRODUÇÃO

A produção de flores tropicais destaca-se no segmento da floricultura, que inclui diversas espécies ornamentais, em função das características que apresentam em relação à beleza e durabilidade (RIBEIRO et al., 2012). Dentre as espécies tropicais, destaca-se o Bastão-do-imperador (*Etilingera elatior* (Jack) RM Smith), pertence à família das Zingiberaceae (UNEMOTO, 2012).

O bastão-do-imperador pode ser propagado de forma sexuada, pela propagação por sementes, contudo há alta variabilidade genética dos indivíduos. A propagação assexuada tradicional da espécie ocorre por divisão de touceiras, entretanto este método auxilia na disseminação de doenças, como a antracnose, (PEGO; DINIZ; SILVA, 2013).

O cultivo *in vitro* é uma opção interessante para a propagação da espécie, possibilitando a produção em escala comercial de mudas de qualidade, em curto espaço de tempo e livres de pragas e de doenças (AGGARWAL et al., 2012). Embora eficiente para promover a clonagem rápida e o melhor enraizamento dos materiais, a micropropagação convencional, devido à vedação dos frascos, pode levar as plantas a distúrbios fisiológicos e, conseqüentemente, baixa taxa de sobrevivência na fase de aclimatização (ISAH, 2015).

O uso do sistema de ventilação natural é uma das maneiras de reduzir os problemas relatados. Esse sistema pode ser obtido por meio do uso de tampas que permitem maior troca gasosa com o ambiente externo (SALDANHA et al., 2012).

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi verificar a multiplicação e o crescimento de bastão-do-imperador em diferentes sistemas de micropropagação, sendo cultivado em sistema de ventilação natural e convencional, bem como o uso de BAP nesses sistemas.

METODOLOGIA

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetal do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais (IFSULDEMINAS), Campus Muzambinho, Muzambinho – MG. Na instalação do

experimento, as plantas estabelecidas *in vitro* há 120 dias foram uniformizadas com cerca de 2 cm de comprimento na ausência de folhas e transplantadas para os diferentes tratamentos. O meio básico utilizado para a montagem do experimento foi o composto pelos sais do meio MS (MURASHIGUE; SKOOG, 1962), o qual foi autoclavado a 120°C, por 20 minutos e pressão de 1,5 atm. A adição do regulador de crescimento ao meio de cultura ocorreu no momento que antecede a aferição de pH, sendo este mensurado em 5,7.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 3 x 2, sendo três concentrações de BAP (0,0; 2,0 e 4,0 mg L⁻¹) e dois sistemas de micropropagação (convencional e ventilação natural), com quatro repetições e três plantas por parcela.

No sistema de micropropagação convencional, foram utilizadas tampas com vedação total para o fechamento dos frascos. No sistema de micropropagação com ventilação natural, as tampas dos frascos foram perfuradas em dois furos de 10 mm de diâmetro cada, e sobre esses furos foi fixada a membrana de filtro (Milli Seal, Millipore, Tóquio, Japão), com poros de 0,5 µm, permitindo assim trocas gasosas.

Após inoculação dos explantes, estes foram mantidos em sala de crescimento com lâmpadas brancas frias, proporcionando 40 µmol m⁻²s⁻¹, com fotoperíodo de 16 horas de luz a temperatura constante de 25°C, por 45 dias, e posteriormente avaliados: comprimento da parte aérea (mm), número de brotos, comprimento de raiz (mm), biomassa fresca (g) biomassa seca das plantas (g).

A análise estatística foi realizada por meio do software SISVAR (FERREIRA, 2011), sendo realizadas as análises de variância (ANAVA) e as médias comparadas pelo Teste de Scott Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença significativa para a interação entre os fatores sistemas de micropropagação e doses de BAP. Menor comprimento de parte aérea foi observado em plantas mantidas em MC na maior dose de BAP (4,0 mg L⁻¹), os demais tratamentos não apresentaram diferenças significativas para esta variável (Tabela 1).

Tabela 1. Comprimento de parte aérea (CPA), número de folhas (NF), número de brotos (NB), comprimento do sistema radicular (CSR), Biomassa fresca (BF) e biomassa seca (BF) de plantas de bastão-do-imperador cv. *Red Torch* cultivadas em Sistemas de Ventilação Natural (SVN) de micropropagação convencional (MC) e com diferentes doses de BAP.

SM ^(*)	BAP (mg L ⁻¹)								
	0			2			4		
	-----CPA (cm)-----			-----NB-----			-----NF-----		
SVN	3,3 Aa	2,6 Aa	3,1 Aa	4,8 Aa	3,3 Ab	4,33 Aa	5,50 Aa	4,33 Aa	6,66 Aa
MC	2,6 Aa	1,6 Aa	1,75 Ba	2,3 Bb	3,3 Aa	3,50 Aa	2,66 Ba	3,66 Aa	3,00 Ba
	-----CSR (cm)-----			-----BF (g)-----			-----BS (g)-----		
SVN	9,0 Aa	0,0 Ab	0,0 Ab	0,8 Aa	0,24Ab	0,26Ab	0,05 Aa	0,02Ab	0,03Ab
MC	2,76 Ba	0,0 Ab	0,0 Ab	0,44 Ba	0,12Ab	0,20Ab	0,02 Ba	0,01 Aa	0,02 Aa

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas na vertical ou minúsculas na horizontal não diferem entre si para o teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. ^(*) Sistema de micropropagação; ⁽¹⁾ Sistema de micropropagação convencional; ⁽²⁾ Sistema ventilação natural (SVN).

O aumento de trocas gasosas no ambiente de cultivo promoveu maior crescimento vegetal devido ao fato de que a utilização das membranas nas tampas permite aumento da concentração de CO₂, possibilitando melhor taxa fotossintética (ZHU et al., 2015) e diminuindo, por conseguinte, a umidade relativa e a concentração de etileno dentro dos frascos de cultivo, alterando, assim, esses fatores que são diretamente ligados ao crescimento das plantas (XIAO; NIU; KOZAI, 2011).

O regulador de crescimento BAP é empregado na cultura de tecidos por estimular a proliferação de brotos em plantas cultivadas *in vitro* (KOECH et al., 2005). Entretanto, seu emprego no meio de cultura pode causar a redução do CPA das plantas micropropagadas (RODRIGUES et al., 2017).

As plantas mantidas no SVN apresentaram maior número de brotos (NB) na ausência de BAP ou com o emprego da dose (4,0 mg L⁻¹). Na MC, maior NB foi observado com o emprego de BAP (2,0 e 4,0 mg L⁻¹) (Tabela 1).

As doses testadas de BAP no presente estudo não aumentaram a proliferação de brotos para as plantas crescendo no SVN (Tabela 1). Entretanto, o emprego BAP na MC é necessário para o aumento do NB quando comparado com as plantas mantidas na ausência

desse regulador de crescimento (Tabela 1). O emprego BAP não incrementou a proliferação de brotos nas plantas mantidas em SVN (Tabela 1), o que pode estar relacionado com as concentrações endógenas de citocinina que foram suficientes para a indução de brotos nas micropropagadas nessa condição ambiental.

Maior NF foi observado nas plantas crescendo no SVN independentemente das concentrações de BAP testadas. De maneira geral, as plantas apresentaram maior NF no SVN quando comparado às plantas em MC, que apresentaram NF médio variando entre 2,66 a 3,66 folhas por planta (Tabela 1). O comprimento do sistema radicular (CSR) foi afetado diretamente pelos fatores em estudo, onde o uso de BAP casou efeito deletério no CSR (Tabela 1). As plantas crescendo em SVN na ausência de BAP apresentaram maior CSR quando comparadas às plantas mantidas em MC, apresentando acréscimo 326% (Tabela 1).

O SVN promove o CSR das plantas de bastão-de-imperador cultivadas *in vitro*. Resultados semelhantes foram encontrados por Cha-um et al. (2011) trabalhando com cultivo *in vitro* de *Macadamia tetraphylla*, em que obtiveram melhores resultados para comprimento e número de raízes nas plantas cultivadas *in vitro* em ambiente enriquecido com CO₂. As biomassas fresca (BF) e seca (BS) foram afetadas pelos sistemas de cultivo *in vitro*. Maiores BF e BS foram encontradas em plantas crescendo do SVN na ausência de BAP (Tabela 1). De maneira geral, as plantas cultivadas no SVN apresentaram maior BS quando comparadas às plantas mantidas em MC (Tabela 1),

O aumento das concentrações de CO₂ e o estímulo à fotossíntese *in vitro* pode explicar o maior acúmulo de BS observado nas plantas de bastão-do-imperador mantidas em SVN no presente estudo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O sistema de ventilação natural promove maior crescimento e mutiplicação das plantas cultivadas *in vitro* quando comparado a micropropagação convencional. O emprego do regulador de crescimento BAP é necessário para promover a indução de brotações no sistema de micropropagação convencional.

REFERÊNCIAS

- AGGARWAL, D.; KUMAR, A.; SHARMA, J.; REDDY, M. S. Factors affecting micropropagation and acclimatization of an elite clone of *Eucalyptus tereticornis* Sm. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, New York, v. 48, n. 5, p. 521-529, jul.2012.
- CHA-UM, S.; CHANSEETIS, C.; CHINTAKOVID, W.; PICHAKUM, A.; SUPAIBULWATANA, K. Promoting root induction and growth of *in vitro* macadamia (*Macadamia tetraphylla* L. 'Keauu') plantlets using CO₂-enriched photoautotrophic conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, Dordrecht, v. 106, n.3, p. 435-444, sept. 2011.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov/dez.2011.
- ISAH, T. Adjustments to *in vitro* culture conditions and associated anomalies in plants. **Acta Biologica Cracoviensia s. Botanica**. Cracow, v. 57, n. 2, p. 9-28, dez.2015.
- KOECH, A. A.; ISUTSA, D. K.; WU, Q. Explants, hormones and sucrose influence *in vitro* shoot regeneration and rooting of calla lily (*Zantedeschia albomaculata* L. Spreng.) 'Black Magic'. **Journal of Agriculture, Science and Technology**, Kenya, v. 7, n. 1, p. 53-66, may.2005.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Escandinávia, v. 15, n. 3, p. 473-497, jul. 1962.
- PÊGO, R. G.; PAIVA, P. D. O.; PAIVA, R. Micropropagation of *Syngonanthus elegantulus*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 37, n. 1, p. 32-39, jan/fev. 2013.
- RIBEIRO, J. M.; MELO, N. F.; COELHO, A. K. N. S.; PINTO, M. S. T. Uso da rapadura como meio nutritivo *in vitro* de bananeira cv. Maçã. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 5, p. 722-725, 2013.
- RODRIGUES, A. A. J.; SANTOS, E. O.; TAKANE, R. J.; CARVALHO, A. C. P. P. Artificial light and growth regulators on the *in vitro* etiolation of *Cattleya labiata*. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 48, n. 2, p. 296-302, abr/jun, 2017.
- SALDANHA, C. W.; OTONI, C. G.; AZEVEDO, J. L. F.; DIAS, L. L. C. REGO, M. M.; OTONI, W. C. A low-cost alternative membrane system that promotes growth in nodal cultures of Brazilian ginseng [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, Dordrecht, v. 110, n. 3, p. 413-422, may 2012.
- UNEMOTO, L. K.; FARIA, R. T.; ASSIS, A. M.; LONE, A. B.; YAMAMOTO, L. Y. Cultivo de bastão-do-imperador sob diferentes espaçamentos em clima subtropical. **Ciência Rural**, v. 42, n.

12, p. 2153-2158, 2012

XIAO, Y.; NIU, G.; KOZAI, T. Development and application of photoautotrophic micropropagation plant system. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, Dordrecht, v. 105, n. 2, p. 149-158, may 2011.

ZHU, C.; ZENG, Q.; McMICHAEL, A.; EBI, K. L.; NI, K.; KHAN, A. S.; ZHU, S.; ZHANG, X.; CHENG, L.; ZISKA, L. H. Historical and experimental evidence for enhanced concentration of artemisinin, a global anti-malarial treatment, with recent and projected increases in atmospheric carbon dioxide. **Climatic Change**, Dordrecht, v. 132, n. 2, p. 295-306, sept. 2015.