

Efeito do ANA e do BAP sobre o Brotamento de Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) em meio Geleificado e Líquido.

Arimura, Celia T.¹; Finger, Fernando L.¹; Casali, Vicente W.D.¹

¹Departamento de Fitotecnia, UFV; 36571-000 Viçosa - MG

RESUMO: Foram analisados a formação e o desenvolvimento de gemas de gengibre *in vitro* em diferentes níveis de ANA (0 – 0.25 – 0.5 – 0.75 – 1.0 mg/L) e BAP (0 – 0.5 – 1.0 – 1.5 – 2.0 mg/L) isoladamente em meio geleificado e líquido, e em seguida os níveis mais favoráveis de cada regulador (ANA: 0 e 0.5 mg/L e BAP: 0 e 1.0 mg/L) foram combinados. Na avaliação de ANA e BAP isolados, a auxina apresentou um efeito significativo sobre o alongamento das brotações em meio líquido e geleificado; o comprimento radicular em meio geleificado e o número de raízes no meio líquido, com efeito máximo a 0.5 mg/L. O BAP apresentou efeito significativo sobre número de brotações em meio líquido e geleificado, sendo 1.0 mg/L de BAP o melhor nível. Em relação ao número de brotos, a interação foi significativa entre BAP e o estado do meio, no meio líquido não adicionado de BAP houve formação de maior número de brotos. Quanto ao comprimento das brotações a interação foi significativa entre ANA e BAP, os tratamentos com 1.0 mg/L de BAP; 0.5 mg/L de ANA e controle foram superiores, para o enraizamento houve efeito significativo do estado do meio, sendo o número e o comprimento de raízes melhores no meio líquido.

Palavras Chave: Gengibre, *Zingiber officinale*, micropropagação, brotação, enraizamento.

ABSTRACT: Effect of ANA and BAP on ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) sprouting in solid and liquid medium. This work evaluated the *in vitro* growth and development of ginger explants submitted to different levels of NAA (0 - 0.25 - 0.5 - 0.75 - 1.0 mg/L) or BAP (0 - 0.5 - 1.0 - 1.5 - 2.0 mg/L) in solid and liquid medium, followed by the growth in the best combination of these growth regulators (0 and 0.5 mg/L NAA plus 0 and 1.0 mg/L BAP). NAA increased the shoots length in both solid and liquid medium. Maximum effect of NAA on the number and length of roots was achieved at concentration of 0.5 mg/L. BAP effected significantly the number of shoots in both media, with maximum response at 1.0 mg/L. In liquid medium the absence of BAP induced higher number of shoots and the length of shoots was affected by NAA and BAP, with best effects at 1.0 mg/L BAP, 0.5 mg/L and control. Root number and length were enhanced in liquid medium regardless the growth regulator treatment.

Key Words: Ginger, *Zingiber officinale*, micropropagation, sprouting, rooting.

INTRODUÇÃO

O gengibre é uma especiaria muito apreciada e consumida em diversas partes do mundo, devido às suas características medicinais e aromáticas. A micropropagação tem sido proposta para multiplicação em larga escala pelos problemas ocasionados pela contínua propagação vegetativa dos rizomas, como disseminação de infecções sistêmicas, diminuição do volume do produto comercializável e desuniformidade das plantas devido à dormência das gemas (Hosoki & Sagawa, 1977; Balachandran et al., 1990; Ikeda & Tanabe, 1989; Lange et al., 1987). Para satisfazer estes critérios, uma técnica muito apropriada é a multiplicação de gemas *in vitro*. A vantagem desta técnica é a produção em condições estéreis de grande número de plantas uniformes e geneticamente estáveis (Evans, 1990). Os reguladores de crescimento auxina e citocinina são normalmente adicionados ao meio de cultura, e a interação entre eles promove respostas nos tecidos que dependem do tipo e do nível de cada regulador (George, 1993). Além da variação no crescimento e desen-

volvimento das plantas *in vitro*, Sakamura et al., (1986) testando diferentes níveis de ANA e BAP no cultivo de ápice caulinar de gengibre, verificaram que os constituintes voláteis dos rizomas apresentavam variação na composição química dos óleos essenciais. O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito de níveis de ANA sobre o alongamento e enraizamento e de BAP sobre a indução de brotações múltiplas, utilizados isoladamente em meio líquido e sólido; em seguida, os níveis de ANA e BAP que apresentaram melhores respostas foram avaliados em combinação, em meio líquido e sólido.

MATERIAL E MÉTODO

Os explantes iniciais foram plântulas de gengibre produzidas *in vitro* em meio de Murashige & Skoog, 1962 (MS) suplementado com 0.1 mg.L⁻¹ de tiamina-HCl; 0.5 mg.L⁻¹ ácido nicotínico e 0.5 mg.L⁻¹ piridoxina-HCl; 100.0 mg.L⁻¹ de mio-inositol; 2.0 mg.L⁻¹ de glicina e 30.0 g.L⁻¹ de sacarose (Arimura et al., in press). As brotações foram retiradas dos tubos de cultura removendo-se a parte aérea e o sistema radicular, deixando-

se apenas os segmentos de 4-6 mm com a gema meristemática. Os tratamentos em meio líquido foram mantidos sob agitação (mesa agitadora orbital Modelo-TE140) em temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 16 horas de luz por 30 dias em Erlenmeyer de 250 ml com seis explantes em cada frasco, sendo cada frasco um tratamento. Foram utilizados algodão como suporte das plantas. No tratamento em meio sólido foi utilizado ágar a 7% (p/v). O pH foi ajustado para 5.7 ± 0.1 com o uso de NaOH (0.1 N). Cinco concentrações de ácido naftalenoacético - ANA (0, 0.25, 0.50, 0.75 e 1.0 mg.L^{-1}) e cinco de benzilaminopurina - BAP (0, 0.50, 1.0, 1.5 e 2.0 mg.L^{-1}) foram utilizadas, dispostos no delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições. O experimento foi repetido duas vezes.

A segunda parte do experimento foi iniciada após a obtenção dos resultados da primeira etapa, utilizando-se os níveis 0 e 0.5 mg/L de ANA em combinação com 0 e 1.0 mg/L de BAP em meio líquido e geleificado, seguindo os mesmos procedimentos anteriores. O delineamento foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial ($2 \times 2 \times 2$) com 15 repetições. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

RESULTADO E DISCUSSÃO

1- Efeito das concentrações de ANA

1.1- Comprimento das brotações

Em meio geleificado o comprimento das brotações apresentou resposta quadrática, com altura máxima de 1,62 cm na dosagem estimada de 0,49 mg.L^{-1} de ANA não havendo grande variação no tamanho das brotações, tanto na menor quanto na maior dosagem (Figura 1). No meio líquido o efeito de tratamento foi linear decrescente, sendo o maior comprimento (1,86 cm) obtido na ausência de ANA, este efeito da auxina na inibição do alongamento de caules e raízes, pode ser atribuído à sua ação na indução da síntese de etileno, que é um agente inibidor do alongamento (Taiz & Zeiger, 1991).

Resultados semelhantes foram encontrados por Arrebola *et al.* (1997), com o cultivo de *Isoplexia canariensis* em meio líquido que obtiveram o comprimento de brotações aproximadamente duas vezes maior em relação ao cultivo no meio geleificado.

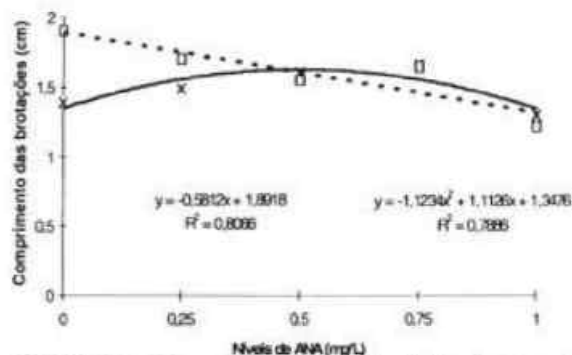


FIGURA 1- Comprimento médio de brotações de explantes de gengibre micropropagados em meio geleificado (—) e líquido (- -) em função de níveis de ANA após 30 dias de cultivo.

1.2- Enraizamento

O comprimento das raízes em meio sólido apresentou resposta quadrática com o comprimento máximo de 2,56 cm com 0,25 mg.L^{-1} de ANA (Figura 2). Segundo Sakamura & Suga (1989), o meio contendo baixos níveis de ANA promove o crescimento de raízes de plântulas de gengibre.

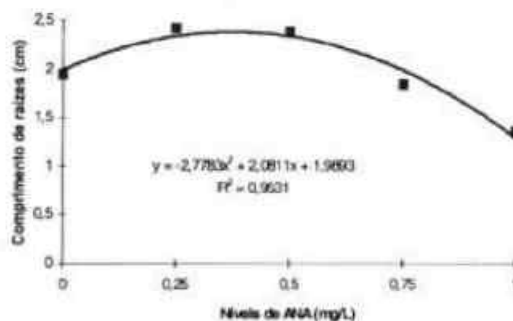


FIGURA 2- Comprimento médio de raízes de explantes de gengibre micropropagados em meio geleificado em função de níveis de ANA após 30 dias de cultivo.

No meio líquido o número de raízes formadas apresentou resposta quadrática crescente com o aumento de níveis de ANA (Figura 3). O enraizamento foi observado em todos os tratamentos, inclusive na ausência de ANA. Outras espécies além do gengibre não necessitam de auxina exógena na fase de enraizamento, como *Colocasia esculenta* var. *esculenta* que desenvolveu o sistema radicular na fase de alongamento das brotações em meio de cultura sem regulador de crescimento (Chng & Goh, 1994).

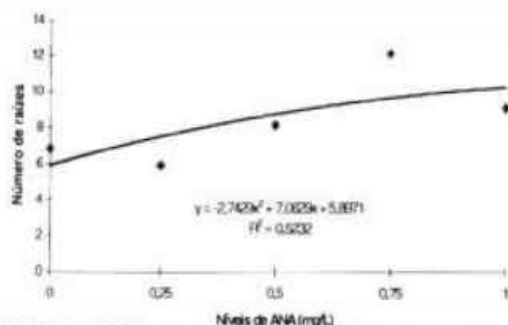


FIGURA 3- Número médio de raízes de explantes de gengibre micropropagados em meio líquido em função de níveis de ANA após 30 dias de cultivo

2- Efeito das concentrações de BAP

2.1- Indução de brotações

Em relação ao número de brotos a resposta obtida foi quadrática nos dois meios, sendo o valor máximo observado no meio geleificado (6.18 brotos/explante), obtido na presença de 0.98 mg.L⁻¹ de BAP, e no meio líquido o maior número de brotações foi obtido com 1.06 mg.L⁻¹ de BAP (6.25 brotos/explante) (Figura 4). No meio geleificado a partir de 1.0 mg.L⁻¹ de BAP, as plantas apresentaram sintomas de toxidez, o que não ocorreu em plantas utilizadas no meio líquido. Segundo Grattapaglia & Machado (1990), os sintomas de toxidez de citocinina são, excessivo entumescimento e falta de alongamento das culturas, redução do tamanho das folhas, encurtamento dos entrenós, engrossamento excessivo dos caules e vitrificação generalizada da cultura.

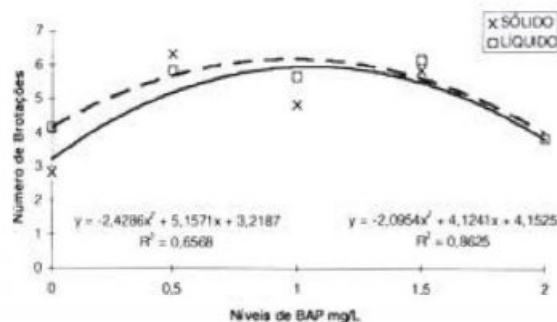


FIGURA 4- Número médio de brotos de gengibre formados em meio geleificado (—) e líquido (- -) em função de níveis de BAP, após 30 dias de cultivo.

3- Efeitos da interação de ANA e BAP em meio líquido e geleificado:

Um balanço adequado entre auxina e citocinina é frequentemente necessário para a formação de primórdios de brotos e raízes. A concentração de cada tipo de regulador difere muito de acordo com o tipo de planta, a condição de cultivo e os compostos utilizados; interações entre as duas classes de reguladores são complexas e mais de uma combinação de substâncias pode produzir bons resultados (George, 1993).

3.1- Número de brotações:

Em relação ao número de brotos formados, verificou-se uma interação significativa entre o BAP e o estado físico do meio (Tabela 1). Em meio líquido não adicionado de BAP, ocorreu maior número de brotações sendo que com a adição de 1.0 mg/L de BAP não se verificou diferença significativa entre ambos meios. Estes dados são consistentes com os resultados encontrados por Arrebola et al. (1997), segundo os quais o meio líquido mostrou-se superior para proliferação das brotações de *Isoplexis canariensis*. A coincidência entre estes dois resultados pode ser devida a uma melhor difusão dos nutrientes em relação ao meio sólido.

TABELA 1: Efeito da interação entre BAP e o estado físico do meio sobre o número médio de brotos formados após 30 dias de cultivo

M E I O	B A P (m g / L)	M É D I A S
G e l e i f i c a d o	0	2 . 0 7 A
	1 . 0	2 . 8 0 B
L í q u i d o	0	3 . 2 3 C
	1 . 0	2 . 4 7 B

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

Ikeda & Tanabe (1989) cultivando brotações de gengibre em meio líquido, originadas de meio sólido (ambos meios com a mesma concentração de BAP e ANA), obtiveram maior número de brotações no meio líquido, segundo estes autores, o efeito do seccionamento reduziu ou eliminou a dominância apical.

3.2- Comprimento das brotações:

Quanto ao comprimento das brotações, verificou-se uma interação significativa entre os reguladores ANA e BAP (Tabela 2), sendo maior com 1.0 mg/L de BAP e 0.5 mg/L de ANA e no controle sem diferença significativa. Ao contrário, Bhagyalaksmi & Singh (1988), observaram no cultivo de meristemas de gengibre que o ANA (0.5 – 0.8 mg/L) em combinação com BAP (0.5 mg/L) produziram brotações anormais com calos, sendo que com ácido indol butírico os resultados foram mais efetivos.

TABELA 2: Efeito da interação de níveis de ANA e BAP sobre o comprimento médio das brotações

A N A (m g / L)	B A P (m g / L)	M É D I A S
0	0	1 . 4 1 A
	1 . 0	1 . 5 7 A
0 . 5	0	1 . 6 1 A
	1 . 0	1 . 1 4 B

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

3.3- Número e comprimento das raízes:

Verificou-se um efeito significativo sobre número e comprimento de raízes em relação ao

meio (Tabela 3). Apesar das raízes formadas em meio líquido serem mais numerosas e com maior comprimento, estas eram, todavia, enovelada e mais ramificadas.

TABELA 3: Efeito do estado físico do meio sobre o número médio e comprimento médio de raízes

MEIO	NUMERO DE RAÍZES	COMPRIMENTO DAS RAÍZES (cm)
Geleificado	7.32 A	1.85 A
Líquido	9.02 B	2.47 B

As médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

O número médio de raízes obtido foi maior do que aquele verificado por Hosokil & Sagawa (1977) em meio geleificado contendo 1.0 mg/L de BAP, ou seja, três raízes; nenhuma raiz foi observada por estes autores em meio destituído de regulador de crescimento.

Quanto ao comprimento médio de raízes, o meio líquido também foi melhor do que o respectivo meio geleificado. Contrário a estes resultados, Bhagyalakshmi & Singh (1988) avaliaram a formação de raízes em meio geleificado e líquido agitado e estático, em níveis crescentes de BAP e em relação ao número e comprimento de raízes. Observaram que em ambas variáveis a resposta foi maior no meio sólido diminuindo com o aumento de níveis de BAP.

A propagação de gengibre *in vitro* porpor meio da multiplicação de gemas utilizando o meio com ANA e BAP, líquido ou sólido foram eficientes na obtenção de um bom número de plantas. O cultivo em meio líquido foi melhor que no meio geleificado em algumas variáveis, e nas demais apresentaram resultados semelhantes.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ARIMURA, C.T., FINGER, F.L., CASALI, V.W.D. A fast method for *in vitro* propagation of ginger. **Tropical Science**, (in press).
- ARREBOLA, M.L., SOCORRO, S., VERPOORTE, R. Micropropagation of *Isoplexis canariensis* (L.) G. Don. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 49, p. 117-9, 1997.
- BALACHANDRAN, S.M., BHAT, S.R., CHANDEL, K.P.S. *In vitro* clonal multiplication of turmeric (*Curcuma* spp.) and ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). **Plant Cell Reports**, v.8, p.521-4, 1990.
- BHAGYLA KSHMI, SINGH, N.S. Meristem culture and micropropagation of a variety of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) with a high yield of oleoresin. **Journal of Horticultural Science**, v.63, n.2, p.321-7, 1988.
- CHNG, R.C.O., GOH, C. High frequency direct shoot regeneration from corm axillary buds and rapid clonal propagation of taro, *Colocasia esculenta* var. *esculenta* (L.) Schott (Araceae). **Plant Science**, v.104, p.93-100, 1994.
- EVANS, N.E. Micropropagation. In: POLLARD, J.W., WALKER, J. **Methods in molecular biology: plant cell and tissue culture**. Clifton: Humana, 1990. p.93-103.
- GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture**. 2.ed. Edington: Exegetics, 1993. 574p.
- GRATTAPAGLIA, D., MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C., CALDAS, L.S. (Eds). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP, EMBRAPA-CNPq, 1990. p.99-169.
- HOSOKI, T., SAGAWA, Y. Clonal propagation of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) through tissue culture. **HortScience**, v.12, n.5, p.451-2, 1977.
- IKEDA, L.R., TANABE, M.J. *In vitro* subculture applications for ginger. **HortScience**, v.24, n.1, p.142-3, 1989.
- LANGE, J.H., WILLERS, P., NEL, M. Elimination of nematodes from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) by tissue culture. **Journal of Horticultural Science**, v.62, n.2, p.249-52, 1987.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised medium of rapid growth and bio-assay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-97, 1962.
- SAKAMURA, F., OGIHARA, K., SUGA, T., TANIGUCHI, K., TANAKA, R. Volatile constituents of *Zingiber officinale* rhizomes produced by *in vitro* shoot tip culture. **Phytochemistry**, v.25, n.6, p.1333-5, 1986.
- SAKAMURA, F., SUGA, T. Medicinal and aromatic plants II. In: BAJAJ, Y.P.S. **Biotechnology in agriculture and forestry**. Berlin: Springer-Verlag, 1989. p.524-37.
- TAIZ, L., ZEIGER, E. **Plant physiology**. Redwood: Benjamin/Cummings, 1991. 559p.