



GEOVANNE SOUZA CHAVES

**GERMINAÇÃO E CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES
in vitro E ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS EM SISTEMA
HIDROPÔNICO DE BASTÃO-DO-IMPERADOR *Etlingera
elatior* (Jack.) Smith.**

LAVRAS - MG

2021

GEOVANNE SOUZA CHAVES

**GERMINAÇÃO E CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES
in vitro E ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS EM SISTEMA
HIDROPÔNICO DE BASTÃO-DO-IMPERADOR *Etlingera*
elatior (Jack.) Smith.**

Monografia apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Curso
de Ciências Biológicas para a
obtenção do título de Licenciado.

Dra. Michele Valquíria Dos Reis

Orientadora

M. Sc. Afonso Ricardo de Souza

Coorientador

LAVRAS - MG

2021

GEOVANNE SOUZA CHAVES

**GERMINAÇÃO E CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES *in vitro* E
ACLIATIZAÇÃO DE MUDAS EM SISTEMA HIDROPÔNICO DE
BASTÃO-DO-IMPERADOR *Etilingera elatior* (Jack.) Smith.**

**GERMINATION AND CRYOPRESERVATION OF *in vitro* SEEDS
AND ACLIMATIZATION OF SEEDLINGS IN HYDROPONIC
SYSTEM OF GINGER TORCH *Etilingera elatior* (Jack.) Smith.**

Monografia apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Curso
de Ciências Biológicas para a
obtenção do título de Licenciado.

Aprovado em 11/06/2021

Dra. Michele Valquíria Dos Reis UFLA

Doutorando Afonso Ricardo de Souza UFLA

Doutoranda Caroline de Oliveira Timóteo UFLA

Dra. Michele Valquíria Dos Reis

Orientadora

M. Sc. Afonso Ricardo de Souza

Coorientador

LAVRAS - MG

2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Universidade Federal de Lavras por me proporcionar as melhores oportunidades desde setembro de 2016, especialmente o Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia, onde eu tive a oportunidade de conhecer o Laboratório de Cultura de Tecidos e ser bolsista de iniciação científica PIBIC-UFLA.

A minha família por tornarem essa experiência possível e pelo suporte ao longo dos anos. A minha mãe principalmente por garantir que sempre houvesse força para enfrentar as dificuldades. A distância me proporcionou muita saudade e em muitos momentos não pude estar presente, mais o carinho que eu sentia de longe me confortava e me motivava cada vez a dar o melhor de mim.

Agradeço a Michele, minha orientadora tão querida, por ter me acolhido tão bem desde que era um calouro. Obrigado por tudo que me ensinou, pela paciência que sempre teve, por ser tão zelosa não só comigo, mas a todos a sua volta, por sempre acreditar e dar suporte para que eu conseguisse alcançar meus objetivos.

Ao meu coorientador Afonso, por ter sido muito paciente comigo desde o início deste trabalho, esse trabalho só foi possível somado ao seu esforço e de vários outros que não requerem menção neste trabalho.

Agradeço a todos meus amigos que me acompanham até hoje, desde o início da graduação e que tornaram meus dias em Lavras mais alegres do que nunca. Em especial a Mel e o Tetéus que me ajudaram nas dúvidas que decorreram durante a escrita deste trabalho.

“Se uma coisa tivesse sido diferente, será que tudo seria diferente hoje?” (Taylor Swfit)

RESUMO

O bastão-do-imperador, *Etilingera elatior* (Jack) R. M. Smith tem origem no Sudeste Asiático. *E. elatior* é uma planta ornamental, herbácea, tropical, rizomatosa e perene. Este trabalho tem como objetivo a criopreservação, germinação de sementes de *E. elatior* sob diferentes condições de luz, além da aclimatização de plântulas germinadas *in vitro* utilizando a semi-hidroponia. As sementes foram coletadas no Setor de Floricultura e Paisagismo da Universidade Federal de Lavras, foi retirado o arilo das sementes e, após secas, foram desinfestadas, com álcool 70° GL por um minuto, em seguida agitadas por 15 minutos em solução de hipoclorito de sódio 3% e lavadas três vezes com água destilada. Para a criopreservação, as sementes foram levadas para a dessecação em fluxo laminar por diferentes tempos (0h; 1h; 3h; 6h), foram imersas em nitrogênio líquido (-196 °C) e após 24h foram descongeladas em banho maria por 2 minutos a 40°C. Para a germinação, sementes após desinfestadas foram cultivadas *in vitro* sobre 5 condições de luzes diferentes (escuro, led branco, led azul, led vermelho e led mix – led azul e vermelho combinados), essas sementes foram embebidas por 2 horas e foram inoculadas 2 sementes por tubo. Além de 6 placas de petri com 25 sementes cada na BOD a 30°. No experimento semi-hidropônico as mudas de bastão-do-imperador foram transplantadas em tubetes contendo fibra de coco, vermiculita e casca de arroz, onde o objetivo foi avaliar ao final de 60 dias o número de folhas e a coloração do pseudocaulo (verde ou avermelhado), onde mudas nos experimentos de criopreservação e de LEDs nenhuma semente germinou, não obtemos uma resposta, acredita-se que as sementes não estavam maduras ou num processo de dormência das sementes que ocorre naturalmente. Já no experimento de semi-hidropônia as mudas com casca de arroz não sobreviveram, apenas no substrato de fibra de coco e vermiculita desenvolveram, apresentando melhores resultados quando usado o substrato vermiculita, além de predominar plantas com pseudocaulos de coloração avermelhada.

Palavras-chave: Sementes. Biotecnologia. Plantas tropicais.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	8
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	8
2.1 <i>Etilingera elatior</i>.....	8
2.2 Sementes.....	9
2.3 Criopreservação.....	9
2.4 LEDs.....	10
2.5 Hidroponia.....	11
REFERÊNCIAS	13
ARTIGO.....	17
1 INTRODUÇÃO.....	17
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
4 CONCLUSÃO.....	27
REFERÊNCIAS.....	28

1 INTRODUÇÃO GERAL

O bastão-do-imperador é uma planta ornamental, com inflorescências chamativas. As brácteas vão do vermelho até o rosa, sustentadas por uma haste longa. Sua propagação geralmente é feita através de divisões de touceiras. Entretanto, pode ocorrer transmissão de patógenos no plantio caso haja alguma planta infectada, dessa forma o uso de sementes é uma forma de evitar contaminações, pois não apresenta espaço intercelulares e tecidos vasculares. (SMITH, 2013). Essas sementes quando maduras e secas, apresentam coloração que varia do marrom escuro a preto. São formadas por cápsulas arredondadas e sua superfície pode ser estriada ou verrucosa (BENEDICT, 2015). Estudos sobre formas de estabelecimentos destas sementes são valiosos para conhecer e obter protocolos sem ter ciência das possibilidades de germinação de *Zingiberaceae* no Brasil.

O presente trabalho tem como objetivo realizar propagação de *E. elatior*, contribuindo assim com o avanço para a área de biotecnologia vegetal, impulsionando que mais trabalhos sejam desenvolvidos na área.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Etilingera elatior*

A família Zingiberaceae pertence à ordem Zingiberales, sendo a maior da ordem, tem 53 gêneros, e mais de 1.200 espécies originárias de regiões tropicais, sendo a maioria no sul e sudeste da Ásia (Kress et al. 2002). Dentre as espécies que se destacam dentro desta família, temos o bastão-do-imperador, *Etilingera elatior* (Jack) R. M. Smith que tem origem no Sudeste Asiático. *E. elatior* é uma planta ornamental, herbácea, tropical, rizomatosa e perene. É muito valorizada devido ao seu porte, apresenta grandes inflorescências, com coloração que vai desde o vermelho até o rosa-claro (BARGUIL et al., 2008).

Segundo TERÃO et al. (2005), é muito explorada no paisagismo, a planta é capaz de atingir entre 3 até 6m de altura, já sua inflorescência pode atingir até 2m de altura e se desenvolvem em hastes ligadas ao solo, essas hastes vegetativas apresentam folhagem muito chamativa e vistosa. O bastão-do-imperador apresenta características que levaram

diversos produtores a negociá-lo como flor de corte, para composição de arranjos florais e como planta para paisagismo (LOGES, 2008).

2.2 Sementes

As sementes da família Zingiberaceae são morfológica e anatomicamente diversas e apresentam muitos caracteres sistematicamente significativos. Muitos desses caracteres são novos e têm o potencial de serem aplicados a outras plantas com sementes com complexidade estrutural semelhante, a coloração das sementes varia do bronze, marrom escuro a preto. São formadas por cápsulas arredondadas e com superfície estriada ou verrucosa (BENEDICT, 2015).

A temperatura é um dos fatores mais importantes para a germinação de uma semente, a água, o oxigênio e a luz também são outros fatores importantes na germinação. O processo consiste na sequência direcionada de atividades metabólicas, a partir de uma semente em estado de latência inicia com a embebição das sementes, e que ativa processos metabólicos gerando um desenvolvimento no embrião e pôr fim a protrusão da radícula (BEWLEY et al., 2013).

O uso de sementes para a germinação é considerado um meio para evitar contaminações por microrganismos ligados ao material vegetal. Isso ocorre pelo fato de serem destituídas de tecidos vasculares e espaços intercelulares, dessa forma, são praticamente livres de agentes patogênicos, isso quando não há algum microrganismo em sua superfície (SMITH, 2013). Existem várias razões para uma semente não germinar, é um organismo multicelular, com vários tecidos diferentes. As sementes apresentam uma massa celular, que é seu tecido de armazenamento que tem papel importante para nutrir o crescimento da planta (BEWLEY et al., 2013).

2.3 Criopreservação

Diversos estudos sobre criopreservação foram realizados no mundo todo para complementar a metodologia tradicional de armazenamento de sementes (Veiga-Barbosa et al., 2013; Pérez-Rodríguez et al., 2017). Essa técnica reduz o metabolismo a níveis baixos, dessa forma todos os processos bioquímicos são praticamente paralisados, essa técnica pode ser utilizada para armazenar material vegetal (Martinková & Honek, 2007; Tresena et al., 2009). Além da simplicidade de manuseio do material, podendo manipular células, calos, sementes, ápices, embriões somáticos e zigóticos (Sharma, 2005). Também

pelo baixo investimento, não necessita de um sistema de refrigeração e eletricidade e o banco de germoplasma ocupa um pequeno espaço ao ser conservado em nitrogênio líquido (ALMEIDA et al., 2010).

Segundo Castro et al. (2011), podem ser realizados pré-tratamentos com crioprotetores - substâncias usadas para proteger o tecido contra danos de congelamento. Eles devem ser testados de acordo com a espécie, isso é necessário para a escolha da técnica (Salomão, 2002; Castro et al., 2011). A criopreservação apresenta ponto crítico com relação ao grau de umidade nas sementes. Caso haja pouca água em seus tecidos, poderá sofrer com excessiva desidratação, o contrário, pode ocorrer formação de cristais de gelo dentro das células, o que pode ocasionar o rompimento das membranas e resultar em células mortas (Gonzalez, 2004, Vendrame et al., 2014).

Para o descongelamento, deve ocorrer o mais rápido possível, pois assim preserva melhor as características fisiológicas. Nesse caso, descongelar em temperatura ambiente não é uma boa opção, pois pode ocorrer o recongelamento durante este período, necessitando de estudos em relação a técnicas rápidas como o descongelamento em banho-maria (temperatura próxima dos 40°C) e a utilização do micro-ondas (Molina et al., 2006).

Vários trabalhos foram realizados com criopreservação de sementes, podendo-se citar: cebola (Molina et al., 2006); espécies da família Bromeliaceae (Tarré et al., 2007); pinhão manso (Goldfarb et al., 2008); algodão (Rocha et al., 2009); Café Conilon (Coelho et al., 2018); Flor-de-São-João (Salomão et al., 2020) e espécies de Orchidaceae (Ferrari et al., 2020). O desenvolvimento de novos protocolos de criopreservação é na sua maioria direcionado para espécies com importância econômica, necessitando cada vez mais de estudos na área para o desenvolvimento de novos protocolos (Civatti et al., 2014).

2.4 LEDs

A energia emitida pelo sol junto ao tempo de exposição à luz que as plantas recebem a cada dia, conhecido como fotoperíodo, são fatores importantes da interação das plantas com seu meio, que controla diversos processos do desenvolvimento como a germinação e fototropismo (SCHUSTER et al., 2012).

O LED (Light-Emitting Diode) é um invento semiconductor composto na maior parte por silício, que emite luz de estreito espectro quando energizado (BOURGET,

2008). As lâmpadas LEDs são inovadoras por apresentarem boas características para o mercado, como o baixo consumo em relação a outras fontes de luz, nesse sentido, é uma fonte de luz promissora para a exploração comercial (DA ROCHA et al., 2016).

O LED possui propriedades espectrais onde é possível regular parâmetros de plantas cultivadas *in vitro*, como variações anatômicas, morfológicas e até outros parâmetros como a indução de embriões somáticos, formação de brotos axilares, alongamento e atividades fotossintéticas (GUPTA & JATOTHU, 2013). Um diferencial do sistema LED é que pode ser colocado próximo à planta, mesmo com alta intensidade, pois o LED emite pouco calor. O LED apresenta redução de até 80% no consumo de energia elétrica, permite o controle e funcionamento remoto e vida útil longa com até 50.000 horas de operação (MORROW, 2008).

2.5 Hidroponia

A produção hidropônica tem cada vez maior relevância, pois utiliza-se menos área, aproveita melhor os nutrientes. Esse cultivo consiste em manter plantas em uma solução aquosa que contenha nutrientes (solução nutritiva) essenciais para seu desenvolvimento, onde as raízes estejam em constante contato com a solução. (BEZERA NETO; BARRETO, 2012).

O cultivo hidropônico é vantajoso, pois gera menor consumo na água e de fertilizantes, melhor controle fitossanitário, redução de riscos climáticos, aumento na produtividade, não há necessidade de diversos manejos (preparo do solo, correção de solo, controle de plantas infestantes e/ou pragas) (CARRIJO, MAKISHIMA, 2000). Algumas desvantagens estão relacionadas ao custo inicial principalmente, o investimento costuma ser alto, tornando inacessível para pequenos agricultores, além de necessidade de conhecimento técnico para o preparo da solução nutritiva, risco de queda de energia elétrica, contaminação da água por patógenos dependendo da origem da água (BEZERA NETO; BARRETO, 2012).

Segundo Silva et al., (2007) com essa técnica podemos produzir até quatro vezes mais por unidade de área comparada ao cultivo tradicional. Alguns métodos são utilizados no sistema hidropônico. Uma delas é o sistema semi-hidropônico, é muito utilizado para a sustentação de flores, frutíferas e outras culturas que apresentam parte aérea mais desenvolvida. Para essa técnica utilizam-se canaletes ou vasos cheios de material inerte, como areia, seixo, casca de pinus, vermiculita ou fibra de coco. A solução nutritiva é percolada através do material e drenada pela parte inferior dos vasos podendo retornar

(sistema fechado) ou não (sistema aberto) ao tanque de solução. Nesse caso, a função do substrato é de sustentar, permitindo que a planta procure através de suas raízes a solução nutritiva.

Na hidroponia, é necessário o uso de substrato, precisa ter uma boa capacidade de reter umidade, ser de fácil transporte, manejo e não conter microrganismos com potencial de causar danos à planta (SILVA et al., 2007). A vermiculita é um silicato com quantidades variáveis de ferro, magnésio, potássio e alumina. No Brasil, os depósitos de vermiculita estão localizados nos estados da Paraíba, Goiás e Piauí. É muito utilizado como substrato na agricultura, pois apresenta alta capacidade de troca de cátions (CTC) o que diminui a perda de fertilizantes por lixiviação, melhora o condicionamento do solo, é um isolante térmico promovendo maior proteção às sementes nas mudanças de temperaturas e possui elevada porosidade melhorando a aeração dos solos. (FRANÇA et al., 2016). A fibra de coco (*Cocos nucifera L*) é um subproduto que leva mais de 8 anos para se decompor na natureza. Apresenta baixo custo, alta disponibilidade, muito utilizado em substratos, pois tem propriedades como, estimulador do enraizamento, aeração do meio de cultivo e retenção de água, é recomendado para cultivos de ciclo longo e para cultivo semi-hidropônico, pois sua decomposição é lenta quando aplicado água e fertilizantes (CARRIJO, MAKISHIMA, 2000). A casca de arroz corresponde aproximadamente a 20% da massa total de resíduos gerados durante a produção, podem ser utilizadas como substrato, é um material que não retém bem a umidade. Apresenta elevada estabilidade física e química, de fácil disponibilidade e baixo custo (Gonçalves et al. 2016). É um material passível de ser empregado isoladamente como substrato, apresentando bons resultados quando utilizado na forma *in natura* (Strassburger et al., 2011; Peil et al., 2014). Assim, a utilização da casca de arroz como substrato torna-se interessante, devido à sua ampla disponibilidade e custo quase nulo.

REFERÊNCIAS

Almeida, F. de A. C.; Jerônimo, E. S.; Alves, N. M. C.; Gomes, J. P.; Silva, A. S. Estudo de técnicas para o armazenamento de cinco oleaginosas em condições ambientais e criogênicas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.12, p.189- 202, 2010.

BARGUIL, BEATRIZ MEIRELES et al . Escala diagramática para avaliação da severidade da antracnose em bastão do imperador. **Cienc. Rural**, Santa Maria , v. 38, n. 3, p. 807-810, jun. 2008.

Benedict JC, Smith SY, Collinson ME, Leong-Škorničková J, Specht CD, Marone F, Xiao X, Parkinson DY. **Seed morphology and anatomy and its utility in recognizing subfamilies and tribes of Zingiberaceae**. *Am J Bot.* 2015 Nov;102(11):1814-41. doi: 10.3732/ajb.1500300. Epub 2015 Oct 27. PMID: 26507111.

BEZERRA, E.N.; BARRETO, L.P. **As Técnicas de Hidroponia** Recife: Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica, p. 107-137, 2012.

BEWLEY, D.; BRADFORD, J.; HILHORST, H.; NONOGAKI, H. Germination. In: **Seeds: Physiology of development, germination and dormancy**. 3. ed. Berlin: Springer Science & Business Media, 2013. p. 133–181.

BOURGET, C. Michael. An introduction to light-emitting diodes. **HortScience**, v. 43, n. 7, p. 1944-1946, 2008.

CARRIJO, O. A.; MAKISHIMA, N. (Ed.). Princípios de hidroponia. **Embrapa Hortaliças**. Brasília, Circular Técnica, 22, 2000. 27p.

CASTRO SV, CARVALHO AA, SILVA CMG, FAUSTINO LR, FIGUEIREDO JR & RODRIGUES APR (2011) Intracellular cryoprotant agents: characteristics and use of ovarian tissue and oocyte cryopreservation. **Acta Scientiae Veterinariae** 39: 957.

CIVATTI, LAILA & MARIA, NAZARE & GABRIELA, TORRES-SILVA & JOSE, GERALDO & BELLINTANI, MOEMA. (2014). Cryoconservation of plant germplasm native to Brazil. **African Journal of Biotechnology**.

COELHO, STEFÂNIA VILAS BOAS et al . Cryopreservation in Coffea canephora Pierre seeds: Slow and fast cooling. **Ciênc. agrotec.**, Lavras , v. 42, n. 6, p. 588-597, Dec. 2018 .

GOLDFARB, M. et al. Teor de água limite para crioconservação das sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 10, n. 02, p. 121-129, 2008.

GONÇALVES, M.A.; VIGNOLO, G.K.; ANTUNES, L.E.C.; REISSER JUNIOR, C. Produção de morangos fora do solo. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Clima Temperado. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Documentos 410. Pelotas, 2016.

DA ROCHA, Paulo Sergio Gomes; COFFY, Thiago Fernandes Soares; HENRIQUE, Sergio. Diferentes intensidades de fluxo de fótons com lâmpadas led's no cultivo hidropônico de cebolinha. **XI ENCONTRO BRASILEIRO DE HIDROPONIA III SIMPÓSIO BRASILEIRO DE HIDROPONIA**, p. 87, 2016

FRANÇA, Silvia CA et al. Vermiculita, mais que um mineral termo acústico. **Rio de Janeiro. Francisco Wilson Hollanda Vidal.(Org.). ANAIS: IV Simpósio de Minerais Industriais do Nordeste. João Pessoa: Cetem**, p. 126-136, 2016.

FERRARI, EDILENE APARECIDA PRETI et al . Degree of moisture in seeds for the cryopreservation of orchids native to Brazil. **Cienc. Rural**, Santa Maria , v. 50, n. 8, e20180498, 2020 .

GONÇALVEZ, M. A.; VIGNOLO, G. K.; ANTUNES, L. E. C.; JUNIOR, C. R. Produção de morangos fora do solo - Pelotas: **Embrapa Clima Temperado**, 2016. 32 p. (Documentos / Embrapa Clima Temperado, ISSN 1516-8840; 410).

GONZALEZ, R.A.F. Efeito da criopreservação usando técnicas de congelamento e crioprotetores sobre parâmetros espermáticos e a integridade de membranas do espermatozóide bovino. **2004. 92 f. Tese (doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2004.**

GUPTA, S. Dutta; JATOTHU, B. Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in in vitro plant growth and morphogenesis. **Plant Biotechnology Reports**, v. 7, n. 3, p. 211-220, 2013.

KRESS, W.J.; PRINCE, L.M.; WILLIAMS, K.J. The phylogeny and a new classification of the ginger (Zingiberaceae): evidence from molecular data. **American Journal of Botany**, v.89, n.10, p.1682-1692, 2002.

LOGES, V., TEIXEIRA, M. C. F., CASTRO, A. C. R., COSTA, A. Colheita, pós-colheita e embalagem de flores tropicais em Pernambuco. **Horticultura Brasileira - HORTIC BRAS.** 23, n.3, p.699-702, jul./sex.2005.

MARTINKOVÁ, Z.; HONEK, A. The effect of cryopreservation on germination of dandelion seeds. **Plant Protection Science**, v.43, p.63-67, 2007.

MOLINA, TATIANA FUENTES et al . Crioconservação em sementes de cebola. **Rev. bras. sementes**, Pelotas , v. 28, n. 3, p. 72-81, Dec. 2006.

MORROW, Robert C. LED lighting in horticulture. **HortScience**, v. 43, n. 7, p. 1947-1950, 2008.

PEIL RMN; ALBUQUERQUE NETO AAR; ROMBALDI CV. Densidade de plantio e genótipos de tomateiro cereja em sistema fechado de cultivo em substrato. **Horticultura Brasileira, Brasília.** v. 32, n. 2, p. 234-240, 2014.

PÉREZ-RODRÍGUES, J.L.; ESCRIBA, R.C.R.; GONZÁLEZ, G.Y.; OLMEDO, J.L.G.; MARTÍNEZ-MONTEIRO, M.E. Effect of desiccation on physiological and biochemical indicators associated with the germination and vigor of cryopreserved seeds of *Nicotiana tabacum* L. cv. Sancti Spiritus 96. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v.53, p.440-448, 2017.

ROCHA, M. M.; CARVALHO, K. J. M.; FREIRE FILHO, F. R.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; SOUSA, I. S. Controle genético do comprimento do pedúnculo em feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 270-275, 2009.

SALOMÃO, A.N. Respostas de sementes de espécies tropicais a exposição ao nitrogênio líquido. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v.14, n.2, p.133-138, 2002.

SALOMAO, ANTONIETA NASSIF; SANTOS, IZULMÉ RITA IMACULADA; JOSE, SOLANGE CARVALHO BARRIOS ROVERI. Cryopreservation of *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers seeds. **Hoehnea**, São Paulo , v. 47, e1042019, 2020 .

SCHUSTER, Mauricio Zanovello et al. Influência do fotoperíodo e da intensidade de radiação solar no crescimento e produção de tubérculos de rabanete. **Applied Research & Agrotechnology**, v. 5, n. 2, p. 73-86, 2012.

SHARMA, S. D. Cryopreservation of somatic embryos – An overview. **Indian Journal of Biotechnology**, v.4, p.47-55, 2005.

SILVA, D. F. Manual prático de horticultura hidropônica para cultivar hortaliças em área urbana e periurbana. **Teresina**, 2005-2007.

STRASSBURGER AS; PEIL RMN; FONSECA LA; AUMONDE TZ; MAUCH CR. Dinâmica do crescimento da abobrinha italiana em duas estações de cultivo. Maringá, **Acta Scientiarum**, v. 33, n. 2, p. 283-289, 2011.

TARRÉ, E.; PIRES, B. B. M.; GUIMARÃES, A. P. M. ET AL. Germinability After Desiccation, Storage and Cryopreservation of Seeds from Endemic *Encholirium Mart. Ex Schult. & Schult. F. and Dyckia Schult. & Schult. F. Species (Bromeliaceae)*. **Acta Botânica Brasileira**, v. 21, n. 4, p. 777-783, 2007.

TERAO, D.; CARVALHO, A. C. P. P.; BARROSO, T. C. S. **Flores tropicais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 225 p.

TRESENA, N. L.; CAVALCANTI-MATA, M. E. R. M.; DUARTE, M. E. M.; MORAES, A. M. DE; DIAS, V. S. Qualidade fisiológica da semente de ipê rosa (*Tabebuia heptaphylla* (Vellozo) Toledo) submetidas à criopreservação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.11, p.87-93, 2009.

VEIGA-BARBOSA, L.; MIRA, S.; GONZÁLEZ-BENITO, M.E.; SOUZA, M.M.; MELETTI, L.M.M.; PÉREZ'GRACÍA, F. Seed germination, desiccation tolerance and cryopreservation of *Passiflora* species. **Seed Science Technology**, v.41, p.89–97, 2013.
VENDRAME, W. A. et al. Orchid Cryopreservation. **Ciência e Agrotecnologia**, v.38, n.3, p.213-229, 2014.

ARTIGO

GERMINAÇÃO E CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES *in vitro* E ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS EM SISTEMA HIDROPÔNICO DE BASTÃO-DO-IMPERADOR *Etilingera elatior* (Jack.) Smith.

GEOVANNE SOUZA CHAVES¹, AFONSO RICARDO DE SOUZA²,
MICHELE VALQUÍRIA DOS REIS³

¹Programa de Bolsa Institucional de Pesquisa, Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil. E-mail: geovanne.chaves@estudante.ufla.br

²Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil. E-mail: afonso.souza@estudante.ufla.br

³Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil. E-mail: michele.reis@ufla.br

Resumo

O bastão-do-imperador, *Etilingera elatior* (Jack) R. M. Smith tem origem no Sudeste Asiático. É uma planta ornamental, herbácea, tropical, rizomatosa e perene. Este trabalho tem como objetivo a criopreservação, germinação de sementes de *E. elatior* sob diferentes condições de luz, além da aclimatização de plântulas germinadas *in vitro* utilizando o sistema semi-hidropônico. Para a criopreservação, as sementes foram colocadas em fluxo laminar em diferentes tempos (0h; 1h; 3h; 6h) e, posteriormente, imersas em nitrogênio líquido (-196 °C) e após 24h foram descongeladas em banho maria (37°C). Para germinação, as sementes foram desinfestadas e embebidas por 2 horas em água foram cultivadas *in vitro* sob condições de luzes diferentes (escuro, led branco, led azul, led vermelho e led mix). Outras sementes do mesmo lote foram acondicionadas em placas de de petri e mantidas em BOD a 30°. Visando otimizar a aclimatização e o crescimento *ex vitro*, plântulas germinadas *in vitro* foram transplantadas em tubetes contendo fibra de coco, vermiculita e casca de arroz e acondicionadas em sistema semi-hidropônico. Na avaliação de criopreservação e de LEDs nenhuma semente germinou, isso pode ocorrer devido a não completa maturação das sementes, ou ao processo de dormência das que ocorre naturalmente. Já no sistema semi-hidropônico as mudas com casca de arroz não sobreviveram, apenas as no substrato de fibra de coco e vermiculita se desenvolveram, apresentando melhores resultados quando usado o substrato vermiculita, além de predominar plantas com pseudocaules de coloração avermelhada.

Palavras-chave: Sementes. Biotecnologia. Plantas tropicais.

1 INTRODUÇÃO

O bastão-do-imperador é uma planta ornamental, com inflorescências chamativas. As brácteas vão do vermelho até o rosa, sustentadas por uma haste longa e robusta. Sua propagação geralmente é feita através de divisões de touceiras. Suas sementes quando maduras e secas, apresenta coloração que varia do marrom escuro a preto (BENEDICT, 2015). Essa planta pertence à família Zingiberaceae, com mais de 1.200 espécies originárias de regiões tropicais, sendo a maioria no sul e sudeste da Ásia (Kress et al. 2002).

É uma espécie muito utilizada no paisagismo, necessitando cada vez mais de estudos para preservar, uma das técnicas que colabora com isso é a criopreservação. Essa técnica reduz o metabolismo a níveis baixos, dessa forma todos os processos bioquímicos são praticamente paralisados, essa técnica pode ser utilizada para armazenar material vegetal (Martinková & Honek, 2007; Tresena et al., 2009).

Para o desenvolvimento das plantas a luz é um fator importante, e as lâmpadas LEDs são inovadoras por apresentarem baixo consumo em relação a outras fontes de luz (DA ROCHA et al., 2016). O LED possui propriedades espectrais onde é possível regular parâmetros de crescimento e desenvolvimento de plantas cultivadas *in vitro*, como variações anatômicas, morfológicas e até outros parâmetros como a indução de embriões somáticos, formação de brotos axilares e alongamento (GUPTA & JATOTHU, 2013). Um diferencial do sistema LED é que pode ser colocado próximo à planta, mesmo com alta intensidade, pois o LED emite pouco calor, apresenta redução de até 80% no consumo de energia elétrica, permite o controle e funcionamento remoto e vida útil longa com até 50.000 horas de operação (MORROW, 2008).

Outra técnica para o desenvolvimento de plantas é a produção hidropônica, utiliza-se menos área e aproveita melhor os nutrientes. Esse cultivo consiste em manter plantas em uma solução aquosa que contenha nutrientes essenciais para seu desenvolvimento, onde as raízes estejam em constante contato com a solução. (BEZERA NETO; BARRETO, 2012). É necessário o uso de substratos com boa capacidade de reter umidade, de fácil transporte, manejo e não conter microrganismos com potencial de causar danos à planta (SILVA et al., 2007). A vermiculita apresenta quantidades variáveis de ferro, magnésio, potássio e alumina. É um isolante térmico promovendo maior

proteção às sementes nas mudanças de temperaturas e possui elevada porosidade melhorando a aeração dos solos. (FRANÇA et al., 2016). A fibra de coco (*Cocos nucifera L*) é um subproduto que apresenta baixo custo, alta disponibilidade, muito utilizado em substratos, pois tem propriedades como, estimulador do enraizamento, aeração do meio de cultivo e retenção de água (CARRIJO, MAKISHIMA, 2000). A casca de arroz apresenta elevada estabilidade física e química, de fácil disponibilidade e baixo custo, pode ser usado isoladamente como substrato (Gonçalves et al. 2016).

O presente trabalho tem como objetivo realizar a criopreservação de sementes, utilizar diferentes LEDs e aclimatizar plântulas germinadas *in vitro* de *E. elatior*, contribuindo assim com o avanço para a área de biotecnologia vegetal, impulsionando que mais trabalhos sejam desenvolvidos na área.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As sementes foram coletadas no Setor de Floricultura e Paisagismo da Universidade Federal de Lavras, município de Lavras, estado de Minas Gerais, Brasil (-21.223921, -44.971033) (Figura 1 e 2). Após a coleta esse material foi levado ao Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, no setor de Fisiologia Vegetal/DBI onde foi realizada a retirada do arilo das sementes com cal hidratada, sendo lavadas em água corrente e colocadas para secar por 24h. Para a desinfecção foram imersas em álcool 70° GL por um minuto, em seguida agitadas por 15 minutos em solução de hipoclorito de sódio 3% e lavadas três vezes com água destilada.

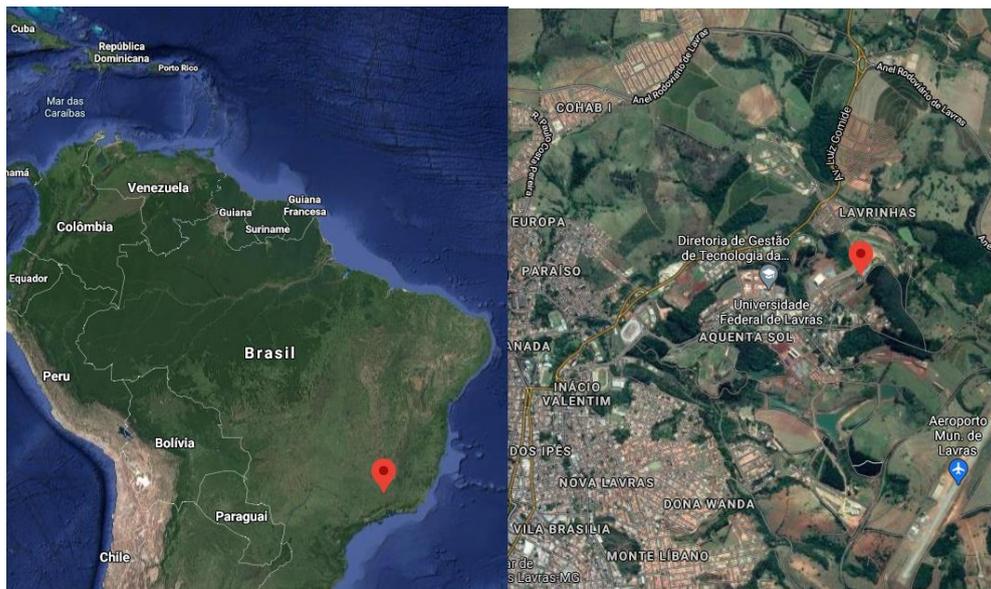


Figura 1. Mapa indicando o município de Lavras, estado de Minas Gerais, Brasil (21.223921, -44.971033). Ampliação do mapa apontando o local de coleta na Universidade Federal de Lavras. Fonte: Google My Maps.



Figura 2 Imagem do Bastão-do-imperador, município de Lavras, estado de Minas Gerais, Brasil. Fonte: Geovanne Souza Chaves

2.1 Criopreservação de sementes de bastão-do-imperador

Foram realizadas quatro repetições com 20 sementes (em cada tempo) para a determinação do teor de água, e para isso foram colocadas em estufa a 105-108°C. Após cada período de desidratação (0; 1; 3 e 6 horas), um lote das sementes foi imerso em NL (-196°C) por 24 horas. Em seguida, as sementes foram descongeladas por 3 minutos em banho-maria, a de 40°C e colocadas para germinar no meio de cultivo WPM (Wood Plant Medium, elaborado por Lloyd & McCown, 1981) e mantidas em câmaras de germinação do tipo B.O.D.

2.3 Propagação de sementes de bastão-do-imperador em diferentes LEDs

Foram avaliadas diferentes condições de luzes, onde as sementes, após desinfestadas, foram inoculadas no meio de cultivo WPM *in vitro* e 2 sementes por tubo sob 5 variações de luzes (escuro, LED branco, LED azul, LED vermelho e LED mix – combinação de led azul e vermelho), essas sementes foram embebidas por 2 horas e foram inoculadas 2 sementes por tubo, totalizando em 20 tubos para cada tipo de luz. Além de 6 placas de petri com 25 sementes cada na BOD com temperatura aproximada de 30°C.

2.4 Aclimatização de bastão-do-imperador em sistema semi-hidropônico

Os experimentos foram realizados em casa de vegetação com sistema de hidroponia com piscinas do Horto Botânico, localizado no Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras. A solução hidropônica foi composta pelos reagentes comerciais Fertilizante Solúvel Hidrogood Fert NPK – 10-09-28 (Tabela 2), Haifa Cal GG (Tabela 3) e Hidrogood Fert Quelato de ferro EDDHA (Tabela 4), diluídos em uma caixa d'água de 1000L em diferentes quantidades, apresentados na Tabela 1.

Um total de 60 mudas foram transplantadas para tubetes de 280 cm³ próprio para hidroponia. O substrato utilizado nos tubetes foram fibra de coco Vida Verde®, vermiculita Gaya e casca de arroz. Os tubetes foram acondicionados nas piscinas do sistema hidropônico também foi utilizada uma lona para vedação da piscina para impedir o crescimento de algas além e evitar a impureza da solução. Após 60 dias, foi avaliado o número de folhas de ambos os tratamentos, taxa de sobrevivência (%) e a coloração do pseudocaule de cada planta.

Tabela 1) Composição da solução nutritiva utilizada no experimento.
As quantidades foram diluídas em 1000L

Reagente Comercial	Quantidade
Fertilizante Solúvel Hidrogood Fert NPK – 10-09-28	720g
Haifa Cal GG	540g
Hidrogood Fert Quelato de ferro EDDHA	40g

(Tabela 2) Teores de nutrientes presentes no Fertilizante solúvel para hidroponia
Hidrogood Fert NPK 10 – 09 – 28.

Nutrientes	Quantidade
Nitrogênio	10%
P205	9%
K20	28%
Magnésio (Mg)	3%
Enxofre (E)	3,70%
SO4	11,06%
Boro (B)	0,06%
Cobre (Cu)	0,01%
Ferro (Fe)	0,15%
Manganês (Mg)	0,05%
Molibdênio (Mb)	0,07%
Zinco (Zn)	0,02%

(Tabela 3) Teores de nutrientes presentes no Nitrato de cálcio Haifa Cal GG	
Nutrientes	Quantidade
N total	16%
N-NO ₃	14%
N-NH ₄	1%
CaO	27%
Ca	19,00%
Matéria inerte	300 ppm

(Tabela 4) Garantias centesimais do Hidrogood Fert Quelato de ferro EDDHA.	
Nutrientes	Quantidade
Ferro (Fe) solúvel em água	6% p/p
Ferro (Fe) quelatado por orto-orto-EDDHA	4,8% p/p
Fração quelatada por EDDHA	100% p/p

2.5 Análises estatísticas

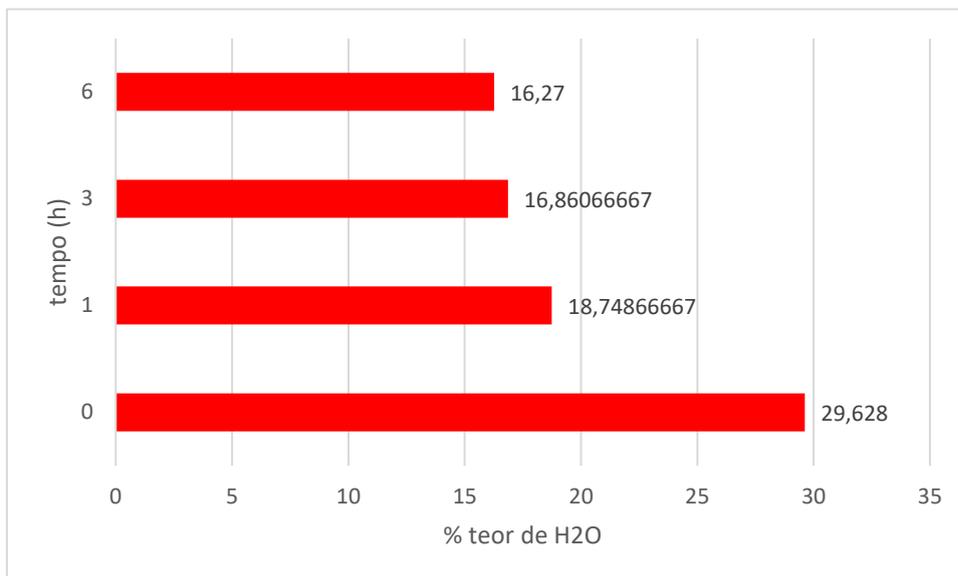
As avaliações ocorreram ao final do período, os dados foram submetidos à análise de variância e a comparação das médias foi realizada pelo teste Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade com auxílio do software Sisvar (FERREIRA, 2014).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nenhuma semente da avaliação de criopreservação e de propagação em diferentes LEDs germinou. Isso pode ter ocorrido devido a diversos fatores, o primeiro lote de sementes não teve uma completa maturação, possivelmente as sementes estavam num processo de dormência o qual ocorre naturalmente, além de uma queimada que ocorreu próximo a coleta das sementes, promovendo alguma anomalia e gerando uma ineficiência do processo germinativo. As sementes possuem tecidos diferentes (BEWLEY et al., 2013), dessa forma é necessário outro teste para entender melhor a viabilidade dessas

sementes. O teor de água observado após cada período de desidratação das sementes foi esperado para o tempo determinado (Figura 3).

Figura 3) – Média do teor de água das sementes desidratadas em estufa a 105-108°C



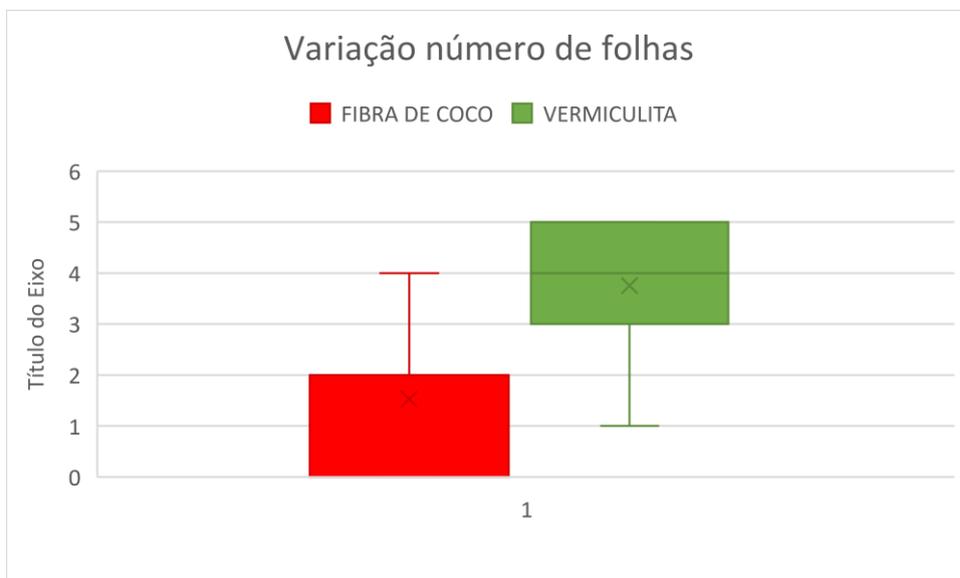
Na avaliação de semi-hidroponia, todas as plantas do substrato de casca de arroz morreram, a fibra de coco apresentou 85% de sobrevivência e a vermiculita 80%. De maneira geral, as plantas apresentaram bom crescimento em relação ao substrato de fibra de coco e vermiculita, o número de folhas variou de 0 a 5 (Figura 3.1). A fibra de coco apresentou menor média de crescimento de número de folhas. Já o substrato vermiculita manifestou maiores quantidades de folhas independente do substrato (Figura 3.2 e 3.3). Os tratamentos apresentaram juntos uma média de 2,60 folhas. O coeficiente de variação (CV) foi de 50,28.

As plantas transplantadas para o substrato de casca de arroz eram jovens e não tinham um sistema radicular desenvolvido, a casca de arroz é um substrato mais poroso e retém a umidade, dessa forma pelo fato de não controlar essa umidade nenhuma planta sobrevive (Gonçalves et al. 2016).

As mudas submetidas ao substrato de fibra de coco apresentaram menos folhas com relação ao substrato de vermiculita, com média de 1,52 folhas para o substrato de fibra de coco e 3,75 para a vermiculita. Além disso, foi observado a predominância de

plantas com pseudocaule de coloração avermelhada no tratamento de fibra de coco (Figura 3.4 e 3.5).

Figura 3.1) – Variação número de folhas avaliadas após 60 dias.



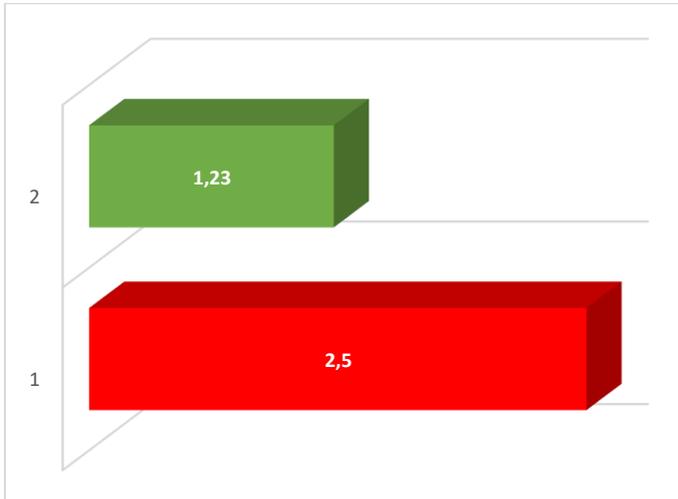


Figura 3.2 – média do número de folhas do substrato fibra de coco

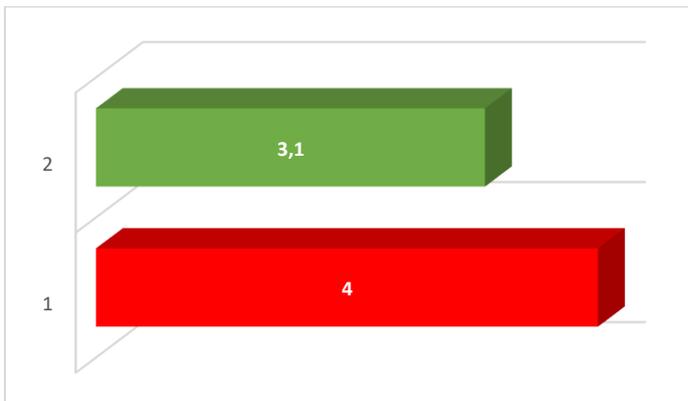


Figura 3.3 – média do número de folhas do substrato vermiculita



Figura 3.4 - Porcentagem de plantas com coloração avermelhada e verde do pseudocaule (substrato fibra de coco). Lavras 2021

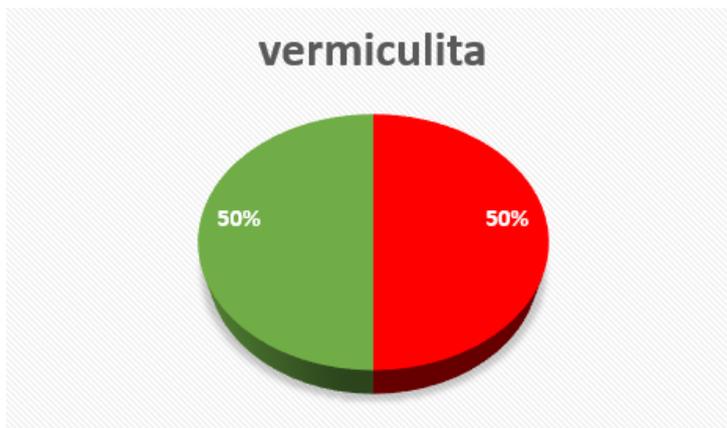


Figura 3.5 - % de plantas com coloração avermelhada e verde do pseudocaule (substrato vermiculita). Lavras 2021

4 CONCLUSÃO

As sementes utilizadas na avaliação de criopreservação e germinação com LED não germinaram.

O substrato casca de arroz não é indicado para aclimatização e desenvolvimento do bastão-do-imperador em sistema semi-hidropônico

A semi-hidroponia é uma boa técnica para a produção de mudas de bastão do imperador provenientes do cultivo *in vitro*.

A vermiculita é um substrato eficiente para a produção de mudas de bastão-do-imperador.

O pseudocaule de coloração avermelhada apresentou predominância com relação ao de cor verde.

O bastão-do-imperador se mostra bastante rústico ao processo de aclimatização.

REFERÊNCIAS

- Benedict JC, Smith SY, Collinson ME, Leong-Škorničková J, Specht CD, Marone F, Xiao X, Parkinson DY. **Seed morphology and anatomy and its utility in recognizing subfamilies and tribes of Zingiberaceae.** *Am J Bot.* 2015 Nov;102(11):1814-41. doi: 10.3732/ajb.1500300. Epub 2015 Oct 27. PMID: 26507111.
- BEZERRA, E.N.; BARRETO, L.P. **As Técnicas de Hidroponia** Recife: Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica, p. 107-137, 2012.
- CARRIJO, O. A.; MAKISHIMA, N. (Ed.). **Princípios de hidroponia.** Embrapa Hortaliças. Brasília, Circular Técnica, 22, 2000. 27p.
- DA ROCHA, Paulo Sergio Gomes; COFFY, Thiago Fernandes Soares; HENRIQUE, Sergio. Diferentes intensidades de fluxo de fótons com lâmpadas led's no cultivo hidropônico de cebolinha. **XI ENCONTRO BRASILEIRO DE HIDROPONIA III SIMPÓSIO BRASILEIRO DE HIDROPONIA**, p. 87, 2016
- FRANÇA, Silvia CA et al. Vermiculita, mais que um mineral termo acústico. **Rio de Janeiro. Francisco Wilson Hollanda Vidal.(Org.). ANAIS: IV Simpósio de Minerais Industriais do Nordeste. João Pessoa: Cetem**, p. 126-136, 2016.
- GONÇALVES, M.A.; VIGNOLO, G.K.; ANTUNES, L.E.C.; REISSER JUNIOR, C. Produção de morangos fora do solo. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Clima Temperado. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.** Documentos 410. Pelotas, 2016.
- GUPTA, S. Dutta; JATOTHU, B. Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in in vitro plant growth and morphogenesis. **Plant Biotechnology Reports**, v. 7, n. 3, p. 211-220, 2013.
- KRESS, W.J.; PRINCE, L.M.; WILLIAMS, K.J. The phylogeny and a new classification of the gingers (Zingiberaceae): evidence from molecular data. **American Journal of Botany**, v.89, n.10, p.1682-1692, 2002.
- MARTINKOVÁ, Z.; HONEK, A. The effect of cryopreservation on germination of dandelion seeds. **Plant Protection Science**, v.43, p.63-67, 2007.
- MORROW, Robert C. LED lighting in horticulture. **HortScience**, v. 43, n. 7, p. 1947-1950, 2008.
- SILVA, D. F. Manual prático de horticultura hidropônica para cultivar hortaliças em área urbana e periurbana. Teresina, 2005-2007.
- TRESENA, N. L.; CAVALCANTI-MATA, M. E. R. M.; DUARTE, M. E. M.; MORAES, A. M. DE; DIAS, V. S. Qualidade fisiológica da semente de ipê rosa (*Tabebuia heptaphylla* (Vellozo) Toledo) submetidas à criopreservação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.11, p.87-93, 2009.