

NOTA CIENTÍFICA

ACLIMATIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO EM CAMPO DE GENGIBRE ADVINDOS DE MUDAS MICROPROPAGADAS E TIPO CONVENCIONAL

ACCLIMATIZATION AND DEVELOPMENT IN FIELD OF GINGER HAPPENED OF MICROPROPAGATED AND CONVENTIONAL TYPE

Carla Giovana GIRARDI¹Clayton DEBIASI²Rosete PESCADOR³

RESUMO

Gengibre (*Zingiber officinale* R.) tem sido muito utilizado por suas propriedades terapêuticas. O fator limitante desta cultura está na presença de doenças causadas por fungos de solo que é saneada pela técnica de micropropagação, podendo produzir mudas de alta qualidade e livre de patógenos. O objetivo foi avaliar o desenvolvimento das mudas micropropagadas de gengibre após 30 dias de aclimatização em três substratos: T1-Areia+Plantmax[®] (1:1), T2-Casca de arroz carbonizada+Plantmax[®] (1:1), e T3-Areia+Plantmax[®]+Casca de arroz carbonizada (1:1:1), e seu desenvolvimento no campo, assim como obter dados em relação ao teor de açúcares solúveis totais nas diferentes fases da planta. Os substratos afetaram de forma similar todos os parâmetros avaliados. O desempenho no campo das mudas micropropagadas *in vitro* em relação àquelas propagadas pelo método convencional foi diferente. Aos 30 dias, as mudas provenientes de rizomas apresentaram maiores valores nos parâmetros avaliados: altura, número de folhas e proliferações, porém aos 60 dias de cultivo as mudas obtidas pela micropropagação apresentaram maior número de proliferações, resultados que mostraram diferença estatística significativa. Na avaliação da quantidade de açúcares solúveis totais, realizados nos rizomas das plantas provenientes da propagação convencional, observaram-se valores superiores àqueles encontrados nos rizomas de plantas com origem na micropropagação, 1621,29±15,32 e 164,91±2,4 mg Eq Glu g⁻¹ MF, respectivamente, o que explica o fato de que obtiveram um crescimento inicial superior, quando comparadas com as mudas oriundas de micropropagação, o primeiro ano de cultivo.

Palavras-chave: *Zingiber officinale*; Substratos; Micropropagação; Açúcares totais.

ABSTRACT

Ginger (*Zingiber officinale* R.), has been highly used for its therapeutic properties. The limiting factor for this growing is the presence of diseases caused by fungi from the soil that is detected by micropropagation, producing high quality plantlets free from pathogenes. The objective was to evaluate the development of the micro propagated ginger plantlets after 30 days of acclimation in three different substrates: T1- Sand + Plantmax[®] (1: 1); T2 – Carbonized rice shell + Plantmax[®] (1: 1), and T3 – Sand + Plantmax[®] + Carbonized rice shell (1: 1: 1), the development at field and to obtain informations about total soluble sugars levels in different stages of the plant. The substrates affected in similar ways form the development of the ginger in the acclimation. The development in field of the micro propagated plantlets was different comparing with the conventional propagation. On the 30th day the plantlets that had rhizomes showed greater values in evaluated parameters: height, number of leaves and proliferations and those, Nevertheless, on the 60th day of cultivation the micro propagated plantlets displayed a greater number of proliferations, results that showed a significant statistical difference. In the evaluation of the amount of total soluble sugars, carried through in rhizomes of the plants proceeding from the conventional propagation, superior values were observed to those found in rhizomes of plants with origin in the micropropagation, 1621,29±15,32 e 164,91±2,4 mg Eq Glu g⁻¹ MF, respectively, what explains the superior initial growth, to compare with micro propagated plantlets.

Key-words: *Zingiber officinale*; substrates; micro propagation; total sugars.

¹ Graduanda Ciências Biológicas, Bolsista PIBIC/CNPq., Departamento de Ciências Naturais – DCN, Universidade Regional de Blumenau – FURB – Brasil, Blumenau - SC; Rua Antônio da Veiga, 140; Caixa postal 1507; CEP: 89010-971; E-mail: carlaggirardi@gmail.com

² Eng. Agrônomo, Doutorando em Agronomia, bolsista CNPq. UNESP - Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP

³ Eng. Agrônoma, Dra. em Botânica, Universidade de São Paulo – USP, Docente Departamento de Ciências naturais – DCN, Universidade Regional de Blumenau – FURB; E-mail: rosetep@furb.br

INTRODUÇÃO

O gengibre é uma planta pertencente à família Zingiberaceae, apresenta propagação vegetativa a qual é altamente utilizada por suas propriedades terapêutica, como antiinflamatória, antináusea, antiúlcera, antibacteriana, entre outras (ONTENCO et al., 1995; WHO, 1999)

O fator limitante da cultura do gengibre (*Zingiber officinale* R.) está no fato de que, convencionalmente, as plantas são propagadas vegetativamente por divisão de rizomas, disseminando fungos patogênicos de solo, cujos principais são *Fusarium oxysporium*, *Armillariella mellea*, *Sclerotium rolfsii*, o que implica em declínio produtivo para a espécie (MELLO et al., 2000; DEBIASI et al., 2004).

Vários são os trabalhos que protocolaram a micropropagação do gengibre, proporcionando a produção em larga escala de mudas elitizadas, ou seja, com qualidade genética e fitossanitária superiores (BALACHANDRAN et al., 1990; SHARMA et al., 1994; SHARMA e SINGH, 1995, 1997; SAMSUDEEN et al., 2000; KHATUN et al., 2003; DEBIASI et al., 2004). Porém, não se tem ainda estabelecido alguns pontos específicos da aclimatização desta espécie bem como, substrato mais adequado, variações no teor de carboidratos na fase de aclimatização e em campo, enfim, dados comparativos do desempenho de campo entre mudas propagadas convencionalmente e por meio da micropropagação. Vale ressaltar que o substrato utilizado na preparação das mudas pode facilitar ou impedir o crescimento das plantas (ALDRUFEU, 1987).

Mesmo não avaliando a quantidade de açúcares solúveis totais nos rizomas oriundos de diferentes métodos de propagação, BHAGYALAKSHIMI e SINGH (1994) compararam rizomas de gengibre propagados convencionalmente com mudas micropropagadas, nos quais nos primeiros 8 meses de cultivo obtiveram menor produção nas mudas micropropagadas, já aos 10 meses de cultivo não houve diferença significativa em relação ao método convencional. Resultados semelhantes foram obtidos por SMITH e HAMILL (1996) cujos autores avaliaram os rizomas de gengibre obtidos nos dois métodos de propagação durante duas gerações.

Neste sentido, o presente trabalho avaliou diferentes substratos na aclimatização de mudas micropropagadas de gengibre, e comparou o desempenho destas mudas produzidas *in vitro* com aquelas oriundas de métodos convencionais de propagação.

METODOLOGIA

Experimento I: Substrato na aclimatização de mudas micropropagadas de gengibre

Utilizaram-se mudas micropropagadas de gengibre, conforme método descrito por DEBIASI et al. (2004), com tamanho aproximado de 3,5 cm, previamente enraizadas, as quais foram submetidas ao cultivo em potes plásticos contendo 500 mL de substratos (tratamentos): T1: areia + plantmax® (1:1), T2: casca de arroz carbonizada + plantmax® (1:1), e T3: areia + plantmax® + casca de arroz carbonizada (1:1:1). As condições ambientais de cultivo em casa de vegetação foram: umidade relativa do ar em torno de 75%, temperatura média de 24 °C e 50% de redução da incidência solar com utilização de sombrites por um período de 30 dias. As características avaliadas ao final do período de aclimatização foram: índice percentual de sobrevivência, altura média e número médio de folhas das mudas. O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados, contendo 3 tratamentos e 6 repetições, sendo cada repetição composta por 10 mudas, sendo as medidas comparadas pelo teste Scott Knott (SKOTT e KNOTT, 1974).

Experimento II: Desempenho no campo de mudas micropropagadas e aquelas oriundas de propagação convencionais.

Utilizaram-se mudas micropropagadas e mudas oriundas de métodos convencionais de propagação, já aclimatizadas, com tamanho aproximado de 8,0 cm (tratamento T1, Figura 1d) e mudas propagadas convencionalmente por divisão de rizoma (tratamento T2, Figura 1b). As mesmas foram cultivadas em campo, utilizando-se espaçamento de 10,0 cm entre plantas e 160,0 cm entre linha, sob molchões de terra de aproximadamente 10,0 cm de altura. Previamente, o solo da área de cultivo recebeu adubação de plantio, que constou da incorporação em sulcos de 100 kg ha⁻¹ (NPK 11-7-35). O cultivo se estendeu por 60 dias, sendo realizadas as seguintes avaliações aos 30 e 60 dias: número médio de brotos, número médio de folhas e altura média das plantas. Aos 60 dias foram, ainda, avaliados os teores de açúcares solúveis totais em rizomas e raízes oriundos de ambos os tratamentos. O experimento foi delineado em blocos ao acaso, contendo 2 tratamentos e 10 repetições, onde cada repetição foi composta por 10 plantas com comprimento médio em torno de 21 cm.

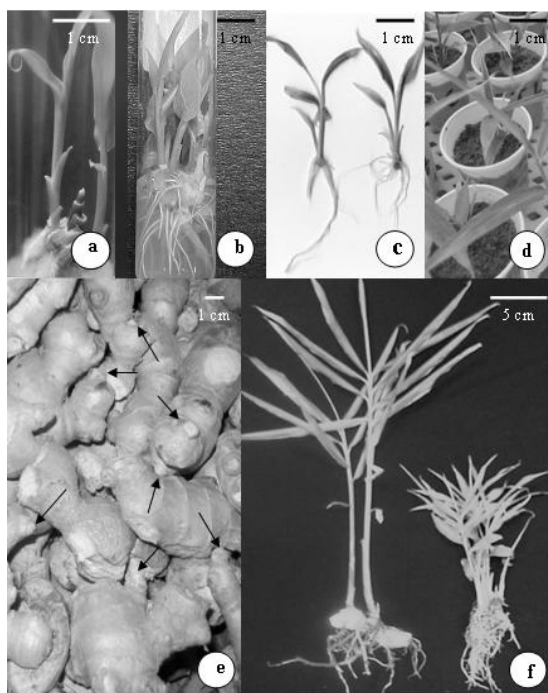


FIGURA 1 - Seqüência de figuras mostrando o processo de micropropagação, aclimatização e mudas provenientes do campo de *Zingiber officinale*, **a** – brotos provindos de gemas cultivada *in vitro*, **b** - sistema radicular das mudas em meio de cultura MS acrescido de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ BAP no 10º dia de cultivo **c** - Mudas de gengibre na aclimatização após 30 dias de cultivo *in vitro* apresentando raízes e

Em ambos os experimentos os resultados foram submetidos à análise de variância e teste de separação de médias Scott e Knott a 5% de probabilidade de erro.

Experimento III: Análise de açúcares solúveis em mudas de gengibre micropropagadas e oriundas de propagação convencional.

Para análise de açúcar solúvel tomou-se cerca de 1 g de massa fresca das raízes das mudas micropropagadas (*in vitro*), micropropagadas (aclimatadas), de mudas produzidas convencionalmente e de rizomas de plantas micropropagadas e de plantas produzidas pelo método convencional. As amostras foram maceradas em graal e pistilo e, em seguida, submetidas a uma extração tripla por fervura em etanol 80% durante 5 minutos.

Os extratos foram centrifugados a 3000 g, a 20 °C, por 10 minutos, e filtrados em microfibras de vidro. Da combinação dos três extratos alcoólicos foi obtida uma porção correspondente à fração de açúcares solúveis, sendo o volume ajustado com água destilada. A quantificação de açúcares totais foi feita através de análise calorimétrica, utilizando-se o método fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente a Figura 1(a-f) apresenta amostras em 1a, referente a mudas apresentando parte aérea,

in vitro em 1b e 1c mostrando parte aérea e sistema radicular, obtidas em condições *in vitro*, em d amostras de mudas aclimatadas, ainda no substrato em e são apresentadas as mudas do tipo convencional, e na última (1 f), são apresentadas plantas proveniente do campo, sendo a da direita oriunda da propagação *in vitro* e a da esquerda, proveniente de mudas do tipo convencional. Independente do substrato utilizado, os índices de sobrevivência foram de 100% na aclimatização de mudas micropropagadas de gengibre.

O alto percentual de sobrevivência das mudas micropropagadas desta espécie também foi relatada por outros autores. BABU et al. (1992) observaram 80% de sobrevivência de mudas micropropagadas de gengibre quando aclimatadas em substratos do tipo solo + areia (1:1) e em ambiente que mantinha a umidade do ar elevada nas duas primeiras semanas de aclimatização. Já para BHAGYALAKSHIMI e SING (1988), este índice subiu para 90% quando utilizaram como substrato uma mistura de solo, esterco vegetal e areia. Ainda, DEBIASI et al. (2004) aclimatizaram gengibre em substrato de casca de arroz carbonizada e areia (1:1), sob redução solar de 50%, por um período de 60 dias, e observaram apenas 5% de perda. SHARMA e SINGH (1997) aclimatizaram com sucesso mudas micropropagadas de gengibre utilizando como substrato uma mistura de solo, areia e "farmyard manure" (1:1:1) e acondicionando-as em túneis plásticos por 6 dias, visando a manutenção elevada da umidade relativa do ar.

Alguns trabalhos relatam a não necessidade de aclimatização de mudas micropropagadas de gengibre. KHATUN et al. (2003), por exemplo, estabeleceram mudas micropropagadas diretamente no campo, sem passarem pela etapa de aclimatização, e obtiveram 100% de pegamento. Já HOSOKI e SAGAWA (1977) também estabeleceram mudas micropropagadas de gengibre diretamente no campo e conseguiram 60-70% de sobrevivência, respectivamente.

A diferença na composição dos substratos não influenciou significativamente a altura das mudas de gengibre após 30 dias de cultivo, sendo que a média geral dos tratamentos foi de 4,60 cm. Da mesma forma, HOFFMANN et al. (2001) relataram que, após 35 dias de cultivo, não ocorria aumento significativo na altura das mudas aclimatadas de gengibre em diferentes substratos, porém salientaram a importância da composição dos substratos na

variação do número de raízes primárias e quantidade de matéria seca produzida pelas mesmas.

O substrato serve de suporte para as plantas, podendo ainda regular a disponibilidade de nutrientes para as raízes, e um bom substrato se dá pela qualidade dos componentes empregados, a partir do exame de suas propriedades físicas e químicas, como densidade, porosidade e a disponibilidade de ar e água, as químicas incluem valor de pH, capacidade de troca de cátions e salinidade (KÄMPF, 2000).

Já em relação ao número médio de folhas produzidas por muda, verificou-se que a utilização de areia + plantmax® + casca de arroz carbonizada (1:1:1) (Tratamento T3) induziu média de 7,25 folhas, valor significativamente superior aos observados nos demais tratamentos: 6,28 e 6,23 folhas para os tratamentos T1 (areia + plantmax® 1:1) e T2 (casca de arroz carbonizada + plantmax® 1:1), respectivamente, como pode ser observado na Tabela 1.

TABELA 1 - Características biométricas de *Zingiber officinale* R., após 30 dias de Aclimatização, conforme tratamentos: T1: areia + plantmax® (1:1), T2: casca de arroz carbonizada + plantmax® (1:1), e T3: areia + plantmax® + casca de arroz carbonizada (1:1:1).

Tratamentos	Altura média (cm)	Número médio de folhas
T1	4,48 a	6,28 b
T2	4,58 a	6,23 b
T3	4,75 a	7,25 a

Letras que se diferenciam na coluna representam significância pelo teste de Skoot Knott a 5% de probabilidade de erro (n=6).

BOSA et al. (2003) relata que a qualidade do substrato de aclimatização passa pela existência de características físicas importantes como, por exemplo, a densidade, porosidade total, espaço de aeração e retenção de água, assim como de características químicas como pH e teor de sais solúveis. HOFFMANN et al. (2001) destacam ainda que o bom desempenho de um substrato se dá, em geral, pela boa agregação de suas partículas, disponibilidade de nutrientes e à adequada drenagem. Ainda HARTMANN e KESTER (1990) salientam que os principais efeitos dos substratos manifestam-se sobre as raízes, podendo acarretar, conseqüentemente, influências sobre o crescimento da parte aérea.

A baixa luminosidade e alta umidade relativa nos frascos de cultura *in vitro* dificultam o estabelecimento de condições autotróficas normais para algumas espécies, quando transferidas para aclimatização (PEDROTTI e VOLTOLINI, 2001). Os mesmo autores relatam ainda, que para as mudas

apresentarem alta taxa de sobrevivência na aclimatização, é necessário que estas produzam novas raízes em substratos, e que estes possuam condições físicas e nutricionais adequadas. Segundo PIO et al. (2002) a obtenção de uma plântula com um sistema radicular bem desenvolvido é de grande importância para a sua sobrevivência e crescimento em novas condições ambientais, como as proporcionadas na aclimatização.

A avaliação comparativa do desempenho de campo entre mudas micropropagadas e aquelas oriundas de métodos convencionais de propagação observou-se que assim como no experimento de aclimatização, a taxa de sobrevivência das mudas foi de 100% também no campo, tanto aquelas oriundas da micropropagação, quanto as propagadas convencionalmente. As diferenças biométricas avaliadas em mudas micropropagadas e propagadas convencionalmente estão apresentadas na Tabela 2 e Figura 1.

TABELA 2 - Características biométricas de *Zingiber officinale* R., após 30 e 60 dias de cultivo a campo, conforme tratamentos: T1 (Plantas micropropagadas) e T2 (Plantas propagadas convencionalmente).

Tratamentos	Altura média (cm)	Nº médio de folhas 30 dias de cultivo	Nº médio de brotos
T1	4,06 b	3,60 b	3,37 a
T2	14,13 a	7,50 a	1,71 b
60 dias de cultivo			
T1	14,34 b	6,42 b	3,04 a
T2	24,42 a	7,78 a	1,83 b

Letras que se diferenciam na coluna representam significância pelo teste de Skoot Knott a 5% de probabilidade de erro (n=10).

Para a altura das plantas após 30 dias de cultivo no campo, verificou-se que as oriundas da propagação convencional apresentaram crescimento significativamente maior que as micropropagadas, com valores médios de 14,13 e 4,06 cm, respectivamente. Este mesmo comportamento se manteve na avaliação realizada aos 60 dias, na qual a altura média das mudas oriundas de propagação convencional foi significativamente superior com valor médio de 24,42 cm, enquanto, as mudas micropropagadas apresentaram valor médio de 14,34 cm.

BHAGYALAKSHIMI e SING (1994), avaliando o cultivo de gengibre no campo, relataram superioridade em relação a altura média para plantas de gengibre propagados convencionalmente, quando comparados aqueles micropropagados. Estes autores justificaram a diferença, argumentando que possivelmente uma quantidade maior de reservas estava presente nas mudas propagadas convencionalmente, quando comparada com as mudas micropropagadas. Sabe-se que as mudas de gengibre, propagadas convencionalmente, são formadas por parte de rizoma contendo gemas e assim, toda a reserva acumulada anteriormente, está presente para apoiar o desenvolvimento e crescimento inicial durante o estabelecimento no campo.

BHAGYALAKSHIMI e SING (1994) e SMITH e HAMILL (1996), observaram diferença significativa em termos de crescimento inicial, entre mudas de gengibre micropropagadas e propagadas convencionalmente, no primeiro ciclo da cultura em campo produtivo. Relatam ainda que nos ciclos seguintes estas diferenças desapareçam.

Também em relação ao número médio de folhas, verificou-se, tanto aos 30, quanto aos 60 dias de cultivo, maior produção nas plantas oriundas da propagação convencional, apresentando valores médios de 7,50 e 7,78; respectivamente. No entanto, as plantas micropropagadas apresentaram médias significativamente inferiores de 3,60 e 6,42 folhas, respectivamente aos 30 e 60 dias de cultivo.

Em relação ao número médio de brotos formados após 30 e 60 dias de cultivo no campo, como pode ser observado na Tabela 2, verificaram-se valores significativamente superiores em plantas oriundas da micropropagação com médias de 3,37 e 3,04 brotos, respectivamente, quando comparados com os obtidos em plantas de origem na propagação convencional formaram médias de 1,71 e 1,83 brotos, respectivamente.

Os resultados acima remetem para um potencial bastante interessante, se visto como fonte inicial para o estabelecimento de matrizes convencionais, visando produção de mudas para ciclos posteriores de cultivo. Com a superioridade genética e fitossanitária destas plantas, o potencial produtivo deve ser garantido, uma vez que alguns autores (SMITH e HAMILL, 1996; BHAGYALAKSHIMI e SING, 1994) mostraram que nos ciclos posteriores ao primeiro cultivo, utilizando-se de mudas de plantas com origem na micropropagação, apresentam elevada produção quando comparados com plantas com origem na propagação convencional.

O comportamento em relação aos teores endógenos de açúcares solúveis totais, tanto nos rizomas, quanto nas raízes dos gengibres cultivados a campo, apresentou diferenças conforme a origem das mudas.

Assim, os rizomas de gengibres produzidos em plantas com origem na micropropagação, apresentaram teores endógenos significativamente inferiores aos de origem convencional, $164,91 \pm 2,4$ e $1621,29 \pm 15,32$ mg Eq Glu g^{-1} MF, respectivamente. Por outro lado, quando analisadas as raízes, verificou-se que aquelas presentes em mudas micropropagadas, ainda *in vitro*, apresentaram teor médio de $341,59 \pm 1,24$ mg Eq Glu g^{-1} MF, significativamente superior a $138,37 \pm 0,21$ e $84,56 \pm 0,20$ mg Eq Glu g^{-1} MF, encontrados em raízes de mudas micropropagadas já aclimatadas e em raízes de mudas propagadas convencionalmente, respectivamente (Tabela 3).

TABELA 3 - Teores endógenos de açúcares solúveis totais em *Zingiber officinale* R., 60 dias de cultivo a campo.

Material	Açúcares Solúveis Totais (mg Eq Glu g ⁻¹ MF)
Raízes de plantas micropropagadas (<i>in vitro</i>)	341,59 ± 1,24
Raízes de mudas micropropagadas (aclimatadas)	138,37 ± 0,21
Raízes de mudas produzidas convencionalmente	84,56 ± 0,20
Rizomas de plantas micropropagadas após 60 dias de cultivo	164,91 ± 2,4
Rizomas de plantas propagadas convencionalmente após 60 dias de cultivo	1621,29 ± 15,32

Segundo KERBAUY (2004), rizomas são órgãos de reserva, e sua parte aérea senesce ao final do período anual de crescimento, permanecendo apenas o órgão subterrâneo espessado, sendo que após um período de dormência variável, esses órgãos podem rebrotar através do desenvolvimento de suas gemas, utilizando reservas acumuladas e assegurando um novo ciclo de desenvolvimento. Portanto os rizomas se tornam essenciais para proteção das gemas nas condições desfavoráveis, sendo que fatores ambientais e endógenos podem controlar esse processo. Assim, pode-se supor que os rizomas de gengibre funcionam como órgãos de reserva e que, durante a queda das folhas e início do rebrotamento, o produto desta reserva é translocado para os locais de intensa atividade metabólica, onde se diferenciam novos brotos, folhas e raízes.

Segundo LARCHER (2000), independente do sistema utilizado, há um declínio no teor de carboidratos de reserva na base do caule e nas raízes, logo após a remoção ou queda da parte aérea. O mesmo autor ainda diz que este declínio prossegue até que ocorra a formação de nova área foliar, suficiente para a produção de novos carboidratos, em quantidades superiores àquelas utilizadas exclusivamente para manutenção das atividades metabólicas, principalmente a respiração celular envolvida no crescimento e desenvolvimento das plantas.

A remoção da parte aérea de uma planta reduz o teor de carboidratos de reserva, o crescimento radicular e a área foliar também diminuem, sendo então o crescimento comprometido, principalmente nos períodos secos do ano, aonde as plantas lançam mão de substâncias de reservas, que estão alocadas principalmente nos rizomas, para o seu desenvolvimento (LARCHER, 2000). Na avaliação da quantidade de açúcares solúveis totais, realizados nos rizomas das plantas provenientes da propagação convencional, observaram-se valores superiores

àqueles encontrados nos rizomas de plantas com origem na micropropagação. Possivelmente o reduzido conteúdo de reservas presente nos rizomas das plantas com origem na micropropagação, aos 30 dias de cultivo em campo, tenha sido o fator determinante para o menor crescimento no campo, mesmo apresentando suas folhas estabelecidas quando comparadas com aquelas propagadas convencionalmente. Por outro lado, nos rizomas de plantas propagadas convencionalmente, a presença dos açúcares solúveis em maior concentração provavelmente deve-se a ativação das hidrolases que degradaram o amido presente, resultando no maior crescimento inicial observado no experimento.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que os três tipos de substratos podem ser utilizados para a aclimatização de mudas de gengibres providas da micropropagação.

Embora o maior crescimento inicial, aos 30 dias de cultivo, tenha acontecido com as mudas do tipo convencional, explicado pelo maior teor de açúcar solúvel endógeno, ainda assim, as mudas micropropagadas apresentam-se potenciais para o estabelecimento de matrizeiros convencionais visando a produção de mudas com alta qualidade fitossanitária, para plantios posteriores a campo.

AGRADECIMENTO

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo a Pesquisa de Santa Catarina (FAPESC), e a Universidade Regional de Blumenau (FURB) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. ALDRUFEU, A. Rooting and acclimatization of *Pelargonium zonale* plantlets. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 212, p. 361-366, 1987.
2. BABU, K. N.; SAMSUDEEN, K.; RTINAMBAL, M.J. *In vitro* plant regeneration from leaf-derived callus in ginger *Zingiber officinale* Roscoe). **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 29, p. 71-74, 1992.
3. BALACHANDRAN, S.M.; BRAT, S.R.; CHANDEL, K.P.S. *In vitro* clonal multiplication of turmeric (*Curcuma* spp.) and ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). **Plant Cell Reports**, v. 8, n. 9, p. 521-524, 1990.
4. BHAGYALAKSHIMI, S.M.; SINGH, N.S. Meristem culture and micropropagation of a variety of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) with a high yield of oleoresin. **Journal of Horticultural Science**, v. 63, n. 2, p. 321-327, 1988.
5. BHAGYALAKSHIMI, S.; SINGH, N.S. The yield and quality of ginger produced by micropropagated plants as compared with conventionally propagated plants. **Journal of Horticultural Science**, v. 69, n. 4, p. 645-651, 1994.
6. BOSA, N.; CALVETE, E.O.; SUZIN, M.; BORDIGNON, L. Avaliação do crescimento de *Gypsophila paniculata* durante o enraizamento *in vitro*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 510-513, 2003.
7. DEBIASI, C.; FELTRIN, F.; MICHELIZZI, F.C. Micropropagação de gengibre (*Zingiber officinale*). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, n. 1, p. 65-70, 2004.
8. DUBOIS, M.; GUILLES, A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-355, 1956.
9. HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E. **Plant propagation: principles and practices**. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1990. 642 p.
10. HOFFMANN, A.; PASQUAL, M.; CHALFUN, N.N.J. Efeito de substratos na aclimatização de plantas micropropagadas do porta-enxerto de macieira 'Anabá'. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n.2, p. 462-467, 2001.
11. HOSOKI, T.; SAGAWA, Y. Clonal propagation of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) through tissue culture. **Hort Science**, v. 12, n. 5, p. 451-452, 1977.
12. KÄMPF, A.N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. 1 ed. Guaíba: Agropecuária, 2000. v.1. 256 p.
13. KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 452p.
14. KHATUN, A.; NASRIN, S.; HOSSAIN, M.T. Large Scale Multiplication of Ginger (*Zingiber Officinale* Rosc.) From Shoot-tip Culture. **OnLine Journal of Biological Sciences**, v. 3, n. 1-8, p. 59-64, 2003.
15. LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2000. 531 p.
16. MELLO, M.O.; AMARAL, A.F.C.; MELO, M. Quantificação da micropropagação de *Curcuma zedoaria* Roscoe. **Scientia Agricola**, v. 57, p. 703-707, 2000.
17. ONTENGCO, D. C., DAYAP, L.A.; CAPAL, T.V. Screening for the antibacterial activity of essential oils from some Philippine plants. **Acta Manilana**, v. 43, p. 19-23, 1995.
18. PEDROTTI, E.L.; VOLTOLINI, J. A. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização do porta-enxerto de macieira M.9. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 2, p. 234-239, 2001.
19. PIO, R.; RAMOS, J.D.; PIO, L.A.S.; MENDONÇA, V.; SILVA, A.B.; PASQUAL, M. Enraizamento *in vitro* de brotações do porta enxerto de citros *Tangerina sunki* x *Trifoliata* English 63-256 com o uso de sacarose e ácido indol-butírico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 1, p. 66-70, 2002.
20. SAMSUDEEN, K.; BADU, K.N.; DIVAKARAN, M.; RAVINDRAN, P.N. Plant regeneration from anther derived callus cultures of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 75, n. 4, p. 447-450, 2000.
21. SCOTT, A.J.; KNOTT, M.A. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 30, n. 2, p. 507-512, 1974.
22. SHARMA T.R.; SINGH, B.M.; CHAUHAN, R.S. Production of disease free encapsulated buds of *Zingiber officinale*. **Plant Cell Reports**, v. 13, n. 5, p. 300-302, 1994.
23. SHARMA, T.R.; SINGH, B.M. *In vitro* microrrhizome production in *Zingiber officinale* Rosc. **Plant cell reports**, v. 15, n. 3-4, p. 274-277, 1995.
24. SHARMA, T.R.; SINGH, B.M. High-frequency *in vitro* multiplication of disease-free *Zingiber officinale* Rosc. **Plant Cell Report**, v. 17, p. 68-72, 1997.
25. SMITH, M.K., HAMILTON, S.D. Field evaluation of micropropagated and conventionally propagated ginger in subtropical Queensland. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 23, n. 3, p. 347-54, 1996.
26. WHO WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Monographs on selected medicinal plants**. v. 1. Geneva, 1999. p. 277-287.

Recebido em 15/03/2007

Aceito em 28/05/2007

