



Micropropagação de Araruta (*Maranta arundinacea* L.)

Micropropagation of Araruta (Maranta arundinacea L.)

NARCISA-OLIVEIRA, Jeniffer¹; TIBURTINO-SILVA, Lorene¹; COSTA, Francilina Araújo¹; CEREDA, Marney Pascoli¹; BRITO, Vitor Hugo¹.

¹Universidade Católica Dom Bosco, engagro.narcisa@gmail.com, lorenetiburtino@yahoo.com.br, facosta@ucdb.br, cereda@ucdb.br, britovhs@gmail.com.

Resumo: O cultivo de araruta é tradicionalmente realizado empregando rizomas, porém outros métodos de propagação como o cultivo *in vitro*, podem ser desenvolvidos e aperfeiçoados para elevar a taxa de multiplicação em curto espaço de tempo e melhorar a qualidade de mudas. O objetivo deste trabalho foi estabelecer uma metodologia, em especial a desinfestação, para a produção de mudas por cultivo *in vitro*. Dois experimentos foram conduzidos, sendo que no Experimento I foram utilizadas plantas provenientes do campo experimental e no Experimento II oriundas de cultivo protegido. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, constituído de quatro tratamentos e com 25 gemas vegetativas. Os tratamentos consistiam em uso sucessivo de: a) hipoclorito de sódio 2,5% com 10 mL L⁻¹ de Tween 20 (1 min), álcool 70% (1 min), três lavagens em água destilada autoclavada; b) hipoclorito de sódio 2,5% com 10 mL L⁻¹ de Tween 20 (3 min), álcool 70% (2 min), três lavagens em água destilada autoclavada; c) hipoclorito de sódio 2,5% com 10 mL L⁻¹ de Tween 20 (6 min), álcool 70% (4 min), três lavagens em água destilada autoclavada e testemunha) com apenas tríplice lavagem em água destilada autoclavada. Após 30 dias da realização do processo de desinfestação e incubação dos explantes, a metodologia do tratamento 3 foi eficaz para brotos oriundos de plantas matrizes cultivadas no campo (80% de descontaminação), porém as gemas oriundas do cultivo em casa de vegetação mostraram melhor aparência física e presença de folhas e melhor resposta à desinfestação com ausência de contaminações.

Palavras-chave: Contaminação, Desinfestação, Cultivo.

Abstract: Arrowroot cultivation is traditionally performed using rhizomes, but other propagation methods such as *in vitro* cultivation can be developed and improved to raise the rate of multiplication in a short period of time and to improve the quality of seedlings. The objective of this work was to establish a methodology, especially disinfections, for the production of seedlings by *in vitro* culture. Two experiments were conducted, and in Experiment I plants from the experimental field were used and in Experiment II from protected cultivation. The experimental design was completely randomized, consisting of four treatments and 25 vegetative buds. The treatments consisted of the following: a) 2.5% sodium hypochlorite with 10 mL L⁻¹ of Tween 20 (1 min), 70% alcohol (1 min), three washes in autoclaved distilled water; b) 2.5% sodium hypochlorite with 10 mL L⁻¹ of Tween 20 (3 min), 70% alcohol (2 min), three washes in autoclaved distilled water; c) 2.5% sodium hypochlorite with 10 mL L⁻¹ of Tween 20 (6 min), 70% alcohol (4 min), three washes in autoclaved distilled water and control) with only threefold washing in autoclaved distilled water. After 30 days of disinfections and incubation of the explants, treatment 3



methodology was effective for sprouts from field plants (80% decontamination), but the buds from the greenhouse crop showed a better appearance physics and presence of leaves, and better disinfection response with no contamination.

Keywords: Contamination, Disinfestation, Cultivation.

Introdução

A araruta (*Maranta arundinacea* L.) é uma planta herbácea, pertencente à família Marantaceae (ordem Zingiberales), família na qual estão agrupados 31 gêneros e 530 espécies. Algumas espécies desta família são utilizadas comercialmente como plantas ornamentais, enquanto outras são destinadas à indústria de extração de amido ou para consumo humano (COSTA et al., 2008; EFZUENI-ROZALI et al., 2014).

Nativa da região neotropical, é cultivada na Ásia, América Central e do Sul. No Brasil é produzida principalmente por pequenos agricultores, porém, com o decorrer dos anos e a modernização da agricultura, seu cultivo foi reduzido de maneira drástica, devido à concorrência com outras espécies de finalidade semelhante, especialmente o milho (*Zea mays* L.) e a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) (BRASIL, 2013; KINUPP; LORENZI, 2014).

Apesar de outras culturas amiláceas como a mandioca e a batata receberem mais incentivos econômicos, para sua produção e pesquisa, estas espécies não apresentam amidos com qualidades técnico-funcionais, como a alta digestibilidade e estruturação de pastas, sendo de maior valor agregado (VIEIRA et al., 2015; SOUZA, et al., 2016).

Apesar de todas as perspectivas que incentivam o seu cultivo, o material vegetal de *M. arundinacea* vem sendo cultivado heterogêneo e de baixa qualidade, assim como a maior parte das espécies nativas (SOUZA, et al., 2017). Para os cultivos de ciclo longo, como a araruta, é desejável o estabelecimento rápido da população de plantas. Além disso, Santos-Serejo et al. (2009), acrescentam que é necessário preconizar a uniformidade de mudas e a sanidade. Neste sentido, o cultivo in vitro (micropropagação), pode ser um importante aliado para atingir os objetivos supracitados.

A cultura de tecidos vegetais é um conjunto de metodologias de cultivo in vitro de células, tecidos e órgãos vegetais, em condições nutricionais e ambientais controladas, com objetivos específicos (HUSSAIN et al., 2012). A tecnologia de cultura de tecidos vegetais está sendo amplamente utilizada para a multiplicação de plantas em larga escala. Além de seu uso como ferramenta de pesquisa, as técnicas



de cultivo de tecidos vegetais têm, nos últimos anos, grande importância na produção escalonada (IDOWU et al., 2009)

Um dos princípios básicos para o sucesso da cultura de tecidos depende, em parte, de medidas de controle e prevenção da contaminação microbiana. Os microrganismos se estabelecem no meio de cultura ou material vegetal, competindo pelos nutrientes, produzindo substâncias tóxicas, inibindo o desenvolvimento do explante e, ocasionalmente, levando à perda do material vegetal em estudo (SOUSA et al., 2007; FOGH, 2012)

Na fase de estabelecimento do cultivo, dependendo da procedência do material a contaminação pode prejudicar o trabalho de micropropagação. As porcentagens de propagação de microrganismos contaminantes podem variar entre as variedades. Quando é exógeno, o controle dos principais agentes contaminantes (bactérias, leveduras e fungos) é notável. Quando a contaminação é endógena os resultados podem ser limitantes, podendo haver perda de tempo, de material genético e de recursos financeiros (SMITH, 2013; SOUZA et al., 2006).

Diniz et al. (2008), relatam que cada espécie carece de um protocolo para o seu cultivo in vitro. Cada fase do processo, consiste essencialmente na assepsia dos materiais vegetativos a serem utilizados para estabelecimento da micropropagação e dos meios pertinentes à multiplicação e ao enraizamento, para que, por fim, se tenha uma planta com condições ideais para ser aclimatada. Neste contexto, devido ao interesse agrícola e agroindustrial da araruta, no presente trabalho objetivou-se estabelecer um protocolo para a micropropagação deste vegetal.

Metodologia

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Micropropagação da Base de Pesquisas da Universidade Católica Dom Bosco, Fazenda Escola. O material vegetal utilizado para o cultivo foram rizomas de *Maranta arundinacea* (L.) colhidos em campo de cultivo (Tratamentos 1, 2, 3 e 4, item Protocolo de desinfestação) e em cultivos em casa de vegetação (Tratamentos 5, 6, 7 e 8, item Protocolo de desinfestação), para os dois tipos de cultivo.

Protocolo de desinfestação

Para a desinfestação e o estabelecimento in vitro, os rizomas foram lavados em água corrente, com o auxílio de uma escova, para a retirada de resíduos aparentes. Em seguida, foi feita uma limpeza retirando-se toda a camada superficial (escamas). Posteriormente, em câmara de fluxo laminar foram extraídas as gemas vegetativas (30 ± 5 mm) e realizada a assepsia testando-se os tratamentos e a testemunha.



Os tratamentos de assepsia consistiram em diferentes tempos de imersão nos produtos desinfectantes e a testemunha passou apenas pelo processo de tripla lavagem em água destilada autoclavada:

Teste 1: tríplice lavagem em água destilada autoclavada (Tratamentos 1 e 5);

Teste 2: Hipoclorito de sódio 2,5% com 10 mL L⁻¹ de Tween 20 (1 minuto), álcool 70% (1 minuto), três lavagens em água destilada autoclavada (Tratamentos 2 e 6);

Teste 3: Hipoclorito de sódio 2,5% com 10 mL L⁻¹ de Tween 20 (3 minutos), álcool 70% (2 minutos), três lavagens em água destilada autoclavada (Tratamentos 3 e 7);

Teste 4: Hipoclorito de sódio 2,5% com 10 mL L⁻¹ de Tween 20 (6 minutos), álcool 70% (4 minutos), três lavagens em água destilada autoclavada (Tratamentos 4 e 8).

Após o processo de assepsia, as gemas foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), suplementado com 1,0 mg L⁻¹ de BAP (6-Benzylaminopurine), gelificado com ágar (6,0 g L⁻¹) e pH ajustado para 5,8. As culturas foram mantidas em sala de crescimento a 23 ± 2 °C, 16 horas de fotoperíodo a 50 µmol m⁻² s⁻¹ de intensidade luminosa, sendo estas as condições utilizadas em todos os testes.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, constituído de quatro tratamentos e cinco repetições. Aos 30 dias do início da incubação, foi avaliada a porcentagem de gemas desinfestados, a contaminação por bactérias e/ou fungos e a porcentagem de brotações (emissão de folhas).

Resultados e discussões

Culturas amiláceas, especialmente as propagadas a partir de rizomas e cormos (estruturas de reservas subterrâneas), possuem como problemática a disseminação de agentes patogênicos entre diferentes áreas, e problemas de contaminação em sistemas de cultivo *in vitro*. Segundo Michereff et al. (2005), microrganismos fitopatogênicos oriundos do solo acarretam perdas econômicas. Souza et al. (2006) corroboram que na fase de estabelecimento *in vitro* a procedência do material influencia diretamente na quantidade de microrganismos e, conseqüentemente, pode prejudicar o trabalho de micropropagação, podendo haver perda de tempo e de material genético.

Em relação aos distintos métodos de assepsia empregados, foram observadas respostas diferentes das gemas de araruta estabelecidas *in vitro*, mudando conforme o local no qual as plantas matrizes foram cultivadas e de acordo com o



tempo de imersão nas soluções assépticas de álcool a 70% e hipoclorito de sódio a 2,5%.

Após 30 dias de cultivo *in vitro*, pode-se notar a ascendente assepsia dos explantes nos tratamentos 4 (explantes oriundos do campo experimental: imersão em hipoclorito de sódio 2,5% com 10 mL L⁻¹ de Tween 20 por 6 minutos, seguido de submersão em álcool 70% por 4 minutos e três lavagens em água destilada autoclavada), 7 (explantes oriundos do campo experimental: imersão em hipoclorito de sódio 2,5% com 10 mL L⁻¹ de Tween 20 por 3 minutos, seguida por submersão em álcool 70% por 2 minutos e três lavagens em água destilada autoclavada) e 8 (explantes oriundos de cultivo em casa de vegetação: submersos em hipoclorito de sódio 2,5% com 10 mL L⁻¹ de Tween 20 por 6 minutos, seguidos por imersão em álcool 70% por 4 minutos e três lavagens em água destilada autoclavada) em relação aos demais (Tabela 1).

Tabela 1. Percentual de ocorrência de contaminações em micropropagação de araruta (*Maranta arundinacea*L.), avaliação aos 15 e 30 dias de cultivo.

Local de cultivo das plantas matrizes	Tratamento	15 dias (%)	30 dias (%)
Campo	1	100,00 a	100,00 a
	2	32,00 a	60,00 c
	3	12,00 b	40,00 d
	4	19,00 a	20,00 e
Casa de Vegetação	5	68,00 b	80,00 b
	6	12,00 b	40,00 d
	7	4,00 c	20,00 e
	8	00,00 c	00,00 f

Em cada coluna, médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

No que diz respeito aos percentuais de propágulos não corrompidos, o tratamento 8 expôs 100% de explantes não contaminados, enquanto que o tratamento 1 (que constou em nenhuma imersão em soluções assépticas) incidiu o inverso, ou seja, 100% de propágulos corrompidos pela presença de microrganismos contaminantes (Figura 1).



Figura 1. Planta de araruta (*Maranta arundinacea* L.) aos 30 dias de cultivo *in vitro*, Tratamento 8 (hipoclorito de sódio 2,5% com 10 ml L⁻¹ de Tween 20 durante 6 minutos, álcool 70% durante 4 minutos, seguido por três lavagens em água destilada autoclavada).

Segundo Debiasi et al. (2004) é recorrente o emprego de hipoclorito de sódio, nas mais variadas concentrações, como forma de desinfestação. Em procedimentos de biotecnologia vegetal, as soluções de hipoclorito de sódio são largamente utilizadas nos procedimentos assépticos dos propágulos para o estabelecimento inicial *in vitro* de diversas espécies.

Efzueni-Rozali et al., (2014) relatam o sucesso no estabelecimento de um protocolo de desinfestação de explantes de *Calathea crotalifera*, também pertencente à família Marantaceae, utilizando hipoclorito de sódio 30% (1 min), álcool 70% (10 min) e cloreto de mercúrio 0,3% (10 min). Entretanto, na atualidade, estes agentes desinfestantes vem sendo utilizados em menor escala, devido a contaminações provocadas pelo mercúrio ao meio ambiente.

Já em plantas comerciais como o gengibre (*Zingiber officinale*), com cultivos tecnificados e menor incidência de patógenos, nota-se a utilização de protocolos de desinfestação menos radicais, como o apresentado por Debiasi et al. (2004) que se fundamentou na imersão de gemas rizomatosas de gengibre em solução de hipoclorito de sódio a 3% (10 min) e de etanol a 70% (2 min).

Conclusões

A desinfestação dos explantes de *M. arundinacea* L. imersos em solução de hipoclorito de sódio 2,5% com 10 ml L⁻¹ de tween 20 (6 minutos), seguida por 4



minutos em álcool 70% e triplo enxágue em água destilada autoclavada se mostrou eficaz tanto para brotos extraídos de plantas matrizes cultivadas no campo como em cultivo protegido. Porém, os inóculos oriundos do cultivo em casa de vegetação mostraram maior vigor e resposta superior à desinfecção.

O estabelecimento de um protocolo de produção de mudas em larga escala de araruta com alta uniformidade e qualidade fitossanitária através de cultivo in vitro é viável, porém há ainda a necessidade do emprego de estudos mais aprofundados do uso desta técnica com essa cultura.

Agradecimentos

À CAPES, ao CNPq e à FUNDECT pelo auxílio financeiro e bolsas concedidas.

Referências bibliográficas

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de hortaliças não-convencionais**. Brasília: Mapa/ACS, 2013. 99p.

COSTA, F.R.C., ESPENILLI, F.B., FIGUEIREDO, F.O.G. **Guide to the Marantaceas of the Ducke and Reserva Biológica do Uatamã**. ed. Inpa, Manaus, 2008.

DEBIASI, Clayton; FELTRIN, Fabiana; MICHELUZZI, Fernanda. Micropropagação de gengibre (*Zingiber officinale*). **Current Agricultural Science and Technology**, v. 10, n. 1, 2004.

DINIZ, J.D.N.; ALMEIDA, J.L.A.; OLIVEIRA, A.B.; BEZERRA, A.M.E. Protocolo para desinfestação, multiplicação e enraizamento in vitro de *Spathiphyllum wallisi*. **Revista Ciência Agrônômica**, v.39, n.1, p.107-113, 2008.

EFZUENI-ROZALI, S., RASHID, K.A., MAT TAHA, R. Micropropagation of an exotic ornamental plant, *Calathea crotalifera*, for production of high quality plantlets. *Sci. World J.* 2014, 11-13. <https://doi.org/10.1155/2014/457092>.

FILIPPIS, L. F. Crop improvement through tissue culture. In: **Improvement of crops in the era of climatic changes**. Springer, New York, NY, 2014. p. 289-346.

FOGH, Jorgen (Ed.). **Contamination in tissue culture**. Elsevier, 2012.



HUSSAIN, A.; QARSHI, I. A.; NAZIR, H.; ULLAH, I. Plant tissue culture: current status and opportunities. In: **Recent advances in plant in vitro culture**. InTech, 2012.

IDOWU, P. E.; IBITOYE, D. O.; ADEMOYEGUN, O. T. Tissue culture as a plant production technique for horticultural crops. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 16, 2009.

KINUPP, V.F.; LORENZI, H.. **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 1014. 768p.

SANTOS-SEREJO, J.A.; SOUZA, A.S.; SOUZA, F.V.D.; JUGHANS, T.G.; LINO, L.S.M.; SOARES, T.L.; SOUZA, E. H. Micropropagação da bananeira. In: JUGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. (Ed.). **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2009. p. 237-255.

SMITH, R. H. **Plant tissue culture: techniques and experiments**. Academic Press, 2013.

SOUSA, G. C.; CLEMENTE, P. L.; ISAAC, V. L. R.; FARIA, S. P.; CAMPOS, M. R. C. Contaminação microbiana na propagação in vitro de *Cattleya walkeriana* e *Schomburgkia crispata*. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 1, p. 405-407, 2007.

SOUZA, A.S.; JUNGHANS, T.G. **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2006. 151 p.

SOUZA, D. C.; LIMA, L. F.; RESENDE, L. V.; COSTA, P. A.; GUERRA, T. S.; GONÇALVES, W. M.; PEREIRA, T. A. R. Conservação pós-colheita de araruta em função da temperatura de armazenamento. **MAGISTRA**, v. 28, n. 3/4, p. 403-410, 2016.

VIEIRA, J. C. B.; COLOMBO, J. N.; PUIATTI, M.; CECON, P. R.; SILVESTRE, H. C. (2015). Desempenho da araruta 'Viçosa' consorciada com crotalária. **Agrária**, v.10, n. 4, p.518-524.