

Concentrações do meio MS e auxinas no enraizamento *in vitro* de bastão-do-imperador (*Etilingera elatior*)

Concentrations of the MS medium and auxins on *in vitro* rooting of the torch ginger (*Etilingera elatior*)

Eder de Oliveira Santos¹, Antonio Anderson de Jesus Rodrigues², Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho^{3*}

RESUMO

Etilingera elatior (Jack) R. M. Smith é uma planta ornamental tropical com excelente potencial de comercialização. A micropropagação possibilita uma maior produção e uniformidade de mudas. Objetivou-se avaliar as concentrações dos nutrientes que compõem o meio de cultura MS combinado com três auxinas no enraizamento e alongamento *in vitro* do bastão-do-imperador cv. Porcelana. Três brotações foram inoculadas por frasco de vidro transparente. As culturas foram mantidas em sala de crescimento, a 24 ± 1 °C, intensidade luminosa próxima de $30 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, sob fotoperíodo de 12 horas de luz. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial $4 \times 3 + 1$, considerando quatro concentrações percentuais do meio (25; 50; 75 e 100%), três auxinas (AIA; AIB e ANA) na dose de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ e o controle que foi a ausência do fitohormônio, com cinco repetições, totalizando 15 brotações por tratamento. As mudas apresentaram melhor alongamento e enraizamento quando cultivadas no meio MS contendo concentrações entre 60 e 70%. O meio MS com aproximadamente 62,25% da concentração e sem adição de regulador promove um maior número de folhas. A adição de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de AIA ao meio MS na faixa de concentração de 60 e 70%, promove maior altura, comprimento da maior raiz, massas fresca e seca das partes aéreas das brotações desta cultura. O meio MS com 65,87% de concentração e $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de AIB promove o maior comprimento das raízes. Isso possibilita a redução dos custos de produção comercial das mudas desta espécie.

Termos para indexação: Micropropagação; fitohormônios; meio de cultura.

ABSTRACT

Etilingera elatior (Jack) R. M. Smith is a tropical ornamental plant with excellent marketing potential. Micropropagation promotes a higher production and uniformity of seedlings. This study aimed to evaluate of different MS medium culture salt concentrations combined with three auxins on *in vitro* torch ginger (*Etilingera elatior*) cv. Porcelain rooting and elongation. Three shoots were inoculated in each clear glass vials. The cultures were maintained in a growth room with photoperiod of 12 hours light the experimental data were analyzed using a completely randomized design in a factorial arrangement of $4 \times 3 + 1$, with four different percentage concentration (25, 50, 75 and 100%) of MS culture medium and three auxins (IAA, IBA and NAA) at $0,1 \text{ mg}$ and a control which was MS culture medium without auxin addition, with five replicates, each treatment consisting of 15 shoots. The plantlets showed better elongation and rooting when grown in MS culture medium containing concentrations between 60 and 70%. MS medium with approximately 62.25% concentration and without addition of regulator promotes a larger number of leaves. The use of 0.1 mg L^{-1} IAA in the concentration range of 60 and 70% promotes greater height, the largest root length, fresh and dry weight of the aerial parts of the shoots of this culture. MS medium with 65.87% concentration and 0.1 mg L^{-1} AIB promotes the highest root length. This enables to reduce costs of commercial production of this species.

Index terms: Micropropagation; phytohormones; culture medium.

INTRODUÇÃO

A produção de flores e plantas ornamentais vem consolidando posições cada vez mais relevantes no agronegócio nacional. Essa atividade, economicamente crescente, destaca-se por agregar alto potencial de expansão futura, representar uma das principais atividades geradoras de ocupação, emprego e renda para micro e pequenos produtores no Brasil, e incorporar parcelas do trabalho feminino rural (Junqueira; Peetz, 2014).

O mercado de flores e plantas ornamentais vem manifestando grande interesse em espécies tropicais representantes da família Zingiberaceae, tanto para a produção de flores de corte quanto de mudas para paisagismo. Além da área ornamental, espécies dessa família também apresentam produtos na área de alimentos, condimentos, medicamentos, perfumes, corantes, óleos essenciais, estética, entre outros (Jaafar et al., 2007; Yunus et al., 2012).

Recebido em 21 de Junho de 2016 e aprovado em 16 de Agosto de 2017

¹Universidade Federal do Ceará/UFC, Departamento de Ciência do Solo, Fortaleza, CE, Brasil

²Universidade Federal do Ceará/UFC, Departamento de Fitotecnia, Fortaleza, CE, Brasil

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Embrapa, Agroindústria Tropical, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Fortaleza, CE, Brasil

*Autor para correspondência: cristina.carvalho@embrapa.br

Dentre as espécies tropicais cultivadas no país, *Etlingera elatior* (Jack) R. M. Smith, conhecida como bastão-do-imperador, destaca-se por seu porte exuberante e formas exóticas de suas inflorescências de cores variadas, bastante apreciado para uso em paisagismo, produção de flor de corte e em alguns países, é utilizado na medicina popular (Ribeiro et al., 2012).

Em bastão do imperador, as mudas são obtidas via propagação vegetativa, por divisão de touceiras ou seccionamento de rizomas (Lamas, 2002). Tais métodos reduzem o número de mudas produzidas, além de possibilitar a disseminação de pragas e doenças, que podem ser transmitidas entre plantios sucessivos. Sendo assim, a cultura de tecidos tem sido sugerida como uma alternativa para minimizar esse entrave.

O estabelecimento e a propagação *in vitro* de uma espécie estão submetidos aos mais diversos fatores. Entre os mais importantes citam-se os nutrientes minerais e reguladores de crescimento que compõem o meio de cultura que, em combinação com outros fatores, como o estado físico, proporcionam a propagação efetiva de cada espécie (Pereira; Fortes, 2003).

Na produção *in vitro* de mudas de espécies que são propagadas vegetativamente, recomenda-se o desenvolvimento de meio de cultura apropriado para cada espécie em questão (Sridhar; Aswath, 2014). Este meio de cultura deve conter compostos de forma balanceada para favorecer a morfogênese e a produção de mudas vigorosas (Yildiz, 2012; Ahmadian et al., 2013).

A concentração salina é um importante fator, tendo em vista que aquela geralmente utilizada do meio de cultura MS é 100%, não sendo na maioria das vezes a ideal nos protocolos de micropropagação. Como relatado por Islam, Klopstech e Jacobsen (2004), a concentração de 75% foi mais efetiva na indução de brotações *in vitro* em cúrcuma, do que o tratamento com 100%. Sendo assim, a concentração dos macro e micronutrientes deve ser pesquisada visando à padronização dos protocolos tendo em vista que uma nutrição inadequada pode causar dificuldades no desenvolvimento das mudas *in vitro* (Sridhar; Aswath, 2014).

No cultivo *in vitro*, protocolos com diversas formulações e diferentes concentrações e/ou combinações de reguladores de crescimento têm sido

utilizados nos meios de cultura, visando adequá-los às necessidades de cada espécie vegetal, entretanto, para bastão-do-imperador existem alguns registros (Rescarolli; Zaffari, 2009; Colombo et al., 2010; Abdelmageed et al., 2011; Karim; Munir, 2011; Oliveira et al., 2012; Yunus et al., 2012; Dias; Pasqual; Carvalho, 2013; Dias et al., 2014).

A terceira etapa da micropropagação consiste na fase de alongamento onde as brotações são induzidas ao enraizamento e crescimento. Para muitas espécies, a rizogênese é promovida com auxílio de hormônios e/ou reguladores de crescimento. Dentre estes, as auxinas têm se mostrado eficientes para a otimização na formação de raízes adventícias, sendo o efeito maior de promover o desenvolvimento das mesmas, através do crescimento das células recém-formadas nos meristemas (Hartmann et al., 2002).

Considerando a crescente importância dessa espécie e as vantagens das técnicas aplicadas ao cultivo *in vitro*, torna-se necessária a realização de estudos que avaliem essas técnicas, na produção de mudas de bastão-do-imperador cv. Porcelana com alta qualidade fitossanitária e genética, em larga escala.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito das concentrações dos nutrientes que compõem o meio de cultura MS combinado com três auxinas na fase de enraizamento e alongamento de mudas micropropagadas *in vitro* do bastão-do-imperador (*Etlingera elatior*) cv. Porcelana.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), em Fortaleza, Ceará.

Foram utilizados como explantes, brotações multiplicadas durante quatro subcultivos sucessivos, de 30 dias cada, em meio de cultura MS (Murashige; Skoog, 1962) contendo 2,5 mgL⁻¹ de BAP (Dias et al., 2013). As culturas foram inicialmente estabelecidas *in vitro*, a partir da cultura de ápices caulinares de bastão-do-imperador [*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Smith] cv. Porcelana. As brotações, com aproximadamente 2,0 cm de parte aérea e 2 folhas, foram inoculadas em frascos

de vidro transparente, com capacidade de 220 mL, em câmara de fluxo laminar, sob condições assépticas.

No ensaio, avaliou-se o efeito de quatro concentrações percentuais de todos componentes do meio de cultura MS suplementado com três auxinas diferentes: ácido indolilacético (AIA), ácido indolbutírico (AIB) e ácido naftalenoacético (ANA).

Em cada frasco foram distribuídos 30 mL de meio de cultura MS, contendo 30 g/L de sacarose e 5,5 g/L de ágar, tendo pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, realizada a 121 °C, por 15 minutos. Foram inoculados três explantes por frasco. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 24 ± 1 °C, fotoperíodo de 12 horas de luz e intensidade luminosa de $30 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ durante 60 dias.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial $4 \times 3 + 1$, considerando quatro concentrações percentuais do meio (25; 50; 75 e 100%), três auxinas (AIA; AIB e ANA) na dose de $0,1 \text{ mgL}^{-1}$ (Silva Júnior et al., 2015) e o controle que foi o meio de cultura MS na concentração normal sem a adição de regulador de crescimento, em cinco repetições. Cada unidade experimental foi constituída por um frasco contendo três explantes, totalizando 15 explantes por tratamento.

As avaliações ocorreram aos 60 dias após a inoculação das culturas *in vitro*, registrando-se a altura das brotações (cm), que foi medida com uma régua, da base da brotação até a inserção da folha mais nova; número de folhas e de raízes por brotação, comprimento da maior raiz (cm); massas fresca e seca das partes aéreas das brotações obtidas por meio de balança analítica de precisão. Para a massa seca, foram utilizados sacos de papel, nos quais foram colocadas as brotações, que em seguida foram mantidas em estufa, a temperatura de 60 °C por 72h. Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão, por meio do software SISVAR (Ferreira, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de regressão não foi significativa para os tratamentos controle e aqueles adicionados de $0,1 \text{ mgL}^{-1}$ de ANA. Já para aqueles suplementados com

$0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de AIA e AIB, em função da concentração do meio MS, foi obtido modelo polinomial quadrático, para todas variáveis estudadas. Entre as auxinas, de acordo com Sharma (2006), AIA e AIB são as geralmente utilizadas para plantas herbáceas que são de fácil enraizamento, como o bastão-do-imperador, enquanto que o ANA tem sido empregado especialmente em espécies lenhosas, que são mais recalcitrantes à formação de raízes.

Pela Figura 1 observa-se a altura dos brotos de bastão-do-imperador cv. Porcelana, aos 60 dias de cultivo *in vitro*, submetidos aos reguladores AIA e AIB, dentro dos níveis das concentrações do meio MS. Os maiores valores para essa variável, de acordo com os dados estimados, foram de 4,73 e 5,24 cm, nos tratamentos contendo AIB e AIA, nas concentrações de 61,75 e 65,73% do meio MS, respectivamente.

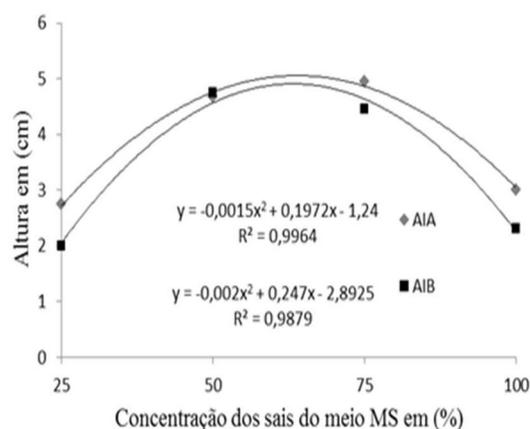


Figura 1 – Curva resposta para altura das brotações de bastão-do-imperador (*Etilingera elatior*) cv. Porcelana em função das auxinas e das concentrações do meio MS, aos 60 dias de cultivo *in vitro*.

Em meio de cultura MS, contendo 100% da concentração de sais, são citadas altura das brotações de bastão-do-imperador desde 2,56 cm (Rescaolli; Zafarri, 2009), 2,93 cm (Oliveira et al., 2012); 3,20 cm (Abdelmageid et al., 2011) até 7,43 cm (Silva Júnior et al., 2015). No presente estudo neste mesmo meio, para a cv. Procelana, as brotações apresentaram em média, 2,31 cm e 3,01 cm, na presença de AIA e AIB, respectivamente.

Resultados semelhantes foram observados por Ferrari et al. (2016), os autores obtiveram o mesmo modelo estatístico deste estudo, verificando aumento da parte aérea de cúrcuma até 64,81% da concentração do meio MS. Esse mesmo comportamento foi observado para a espécie estudada, na concentração de 65,73% do meio, na presença de 0,1 mg L⁻¹ de AIA. Ferrari et al. (2016) constataram ainda que nas concentrações mais altas, isto é 75% e 100%, ocorreu uma redução da altura das partes aéreas em aproximadamente 2,50 cm. No presente estudo, a redução do tamanho das mudas foi de 2,23 cm, na maior concentração do meio MS testada.

Concentrações extremas de sais do meio de cultura podem influenciar negativamente no desenvolvimento da planta, possivelmente pela variação de pressão osmótica da solução, que afeta a absorção dos nutrientes (Haber et al., 2005).

Para variável número de folhas (Figura 2), o modelo matemático que mais se ajustou para as diferentes concentrações do meio MS foi o polinomial quadrático (Figura 2a), sendo que os valores dentro de cada concentração 25, 50, 75 e 100%, segundo dados estimados, foram de 2,54, 2,94, 2,89 e 2,21 folhas, respectivamente.

Corroborando com esses resultados, Ferrari et al. (2016), avaliando a micropropagação de cúrcuma, obteve o mesmo modelo matemático do presente estudo para essa variável, constatando que a concentração de 64,24% do meio MS gerou o maior número de folhas. Para a espécie estudada, o valor máximo observado para essa variável foi de 3,1 folhas, no meio com 62,25%.

Na Figura 2b pode-se observar que a maior quantidade de folhas emitidas por brotação, 3,14, ocorreu no tratamento controle, ou seja, sem adição de auxina. Já em relação ao número de folhas por brotação, nos tratamentos contendo a concentração salina normalmente usada do meio MS, foi de 2,2 cm. Valores um pouco maiores foram registrados por Abdelmageed et al. (2011) e Yunus et al. (2013), 3,00; 3,30 e 3,15 folhas por brotação, no meio MS contendo 100% da concentração salina.

Houve interação significativa entre os percentuais do meio e tipo de auxinas para número e comprimento de raízes emitido por explante. Para o número de raízes,

os melhores resultados foram estimados, 6,82 e 6,31 por brotação, para as concentrações do meio MS de 62,96 e 63,98%, para os tratamentos contendo AIA e AIB, respectivamente (Figura 3).

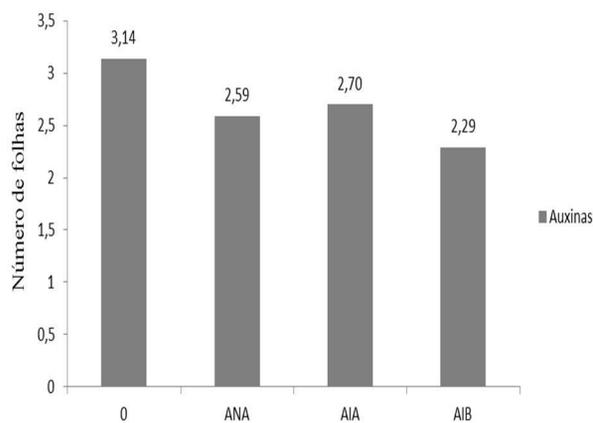
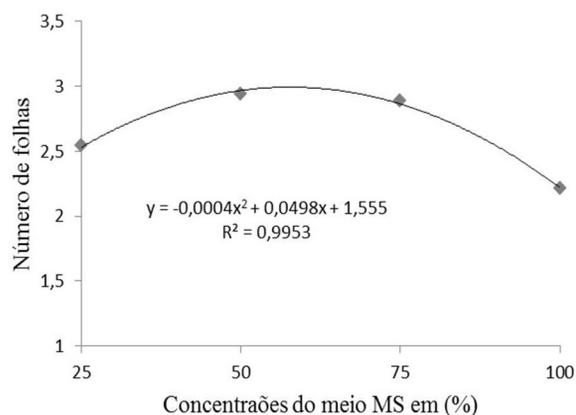


Figura 2 – Curva resposta para número de folhas por brotação de bastão-do-imperador cv. Porcelana, em relação à concentração do meio MS (A). Número de folhas emitidas por brotação em relação às diferentes auxinas (B).

Em relação ao comprimento da maior raiz, os valores observados foram de 7,22 e 7,29 cm nas concentrações são de 63,70 e 65,87% do meio para os respectivos tratamentos AIA e AIB (Figura 4).

Oliveira et al. (2012) registraram o maior número (4 raízes por brotação) e comprimento (2,0 cm) médios de raízes, em mudas da cv. Red Torch cultivadas *in vitro* no meio MS, contendo 100% da concentração salina e suplementado com 1,0 mg/L de BAP + 2,0 mg/L de ANA. Entretanto no mesmo meio de cultura, sem a adição de

fitorreguladores, para o número de raízes são mencionados valores desde 1,00 (Abdelmageed et al., 2011), 5,45 (Silva Júnior et al., 2015), 6,83 (Rescarolli; Zaffari, 2009), 8,44 (Yunus et al., 2012) e para comprimento das raízes, desde 2,94 cm (Yunus et al., 2012), 3,00 cm (Abdelmageed et al., 2011), 3,84 cm (Silva Júnior et al., 2015) até 4,07 cm (Rescarolli; Zaffari, 2009).

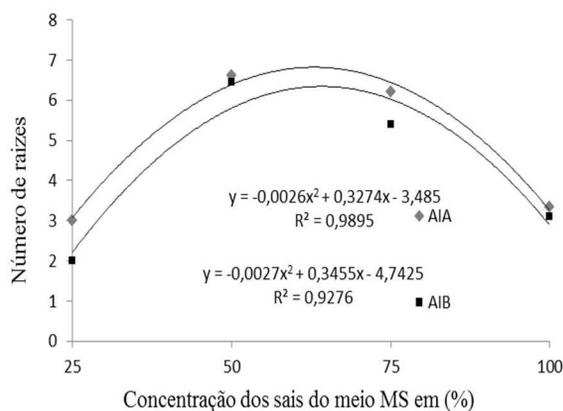


Figura 3 – Curva resposta para número de raízes por brotação de bastão-do-imperador (*Etlingera elatior*) cv. Porcelana em função das auxinas e das concentrações do meio MS, aos 60 dias de cultivo *in vitro*.

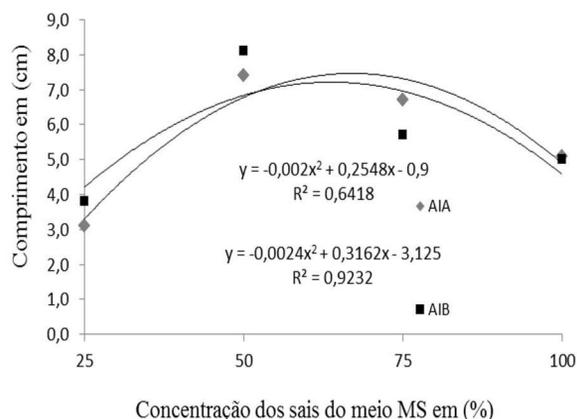


Figura 4 – Curvas resposta para comprimento da maior raiz de brotações de bastão-do-imperador (*Etlingera elatior*) cv. Porcelana em função das auxinas AIA e AIB em relação às concentrações do meio MS, aos 60 dias de cultivo *in vitro*.

Uma das explicações para o aumento do número de raízes com a redução da concentração salina do meio

MS pode estar associada à variação na quantidade de N, pois o aumento da concentração deste nutriente favorece o crescimento da parte aérea em detrimento das raízes (Huimei et al., 2007).

Em *E. coccinea*, uma espécie nativa de bastão da ilha de Bornéu, os maiores valores tanto para o número (7,5) quanto comprimento (3,5 cm) das raízes foram registrados no meio MS contendo 0,2 mg L⁻¹ de AIB (Jualang et al., 2015). Os autores também relatam que no meio sem auxina, não houve o crescimento das raízes. No presente estudo, o meio MS sem regulador não foi significativo.

No caso da cúrcuma, o maior comprimento da raiz foi obtido na concentração de 48,59% do meio MS, entretanto com o aumento para 100%, as mudas apresentaram redução de tamanho de 2,0 cm (Ferrari et al., 2016). Valores semelhantes foram registrados para o bastão-do-imperador, no meio contendo AIB, a redução no comprimento das raízes foi de 2,3 cm.

No presente trabalho, a utilização de ANA não foi significativa, enquanto que AIA e AIB proporcionaram maior número e comprimento de raízes, respectivamente. Os resultados estão de acordo com os obtidos por Kambaska e Santilata (2009) que relataram que o enraizamento de *Zingiber officinale* (gengibre) dificilmente é induzido em meio sem auxina.

Com relação às auxinas, resultados similares foram observados por Silva Júnior et al. (2015), utilizando 100% do meio MS o autor obteve a formação de 7,95 raízes, com comprimento de 8,93 cm no tratamento desprovido de ANA.

Em algumas espécies da família Zingiberaceae, o AIB foi o indutor de raiz mais efetivo comparado com outras auxinas (Giri; Tamta, 2011; Asha et al., 2012; Bimal; Rani; Priyadarshini, 2014). Em contraste, a adição de AIA no meio favoreceu a formação de raízes em *Etlingera elatior* (Abdelmageed et al., 2011), já o ANA, para *Zingiber officinale* (Abbas et al., 2011), *Curcuma aromatica* (Sharmin et al., 2013) e *Hedychium coronarium* (Verma; Bansal, 2014).

A diferença em resposta a indução de raízes pode ser explicado pelas interações complexas entre os níveis endógenos e exógenos de hormônios durante o cultivo *in vitro* (Ditengou et al., 2008).

Vale ressaltar que neste trabalho, os melhores valores para o comprimento da maior raiz foram atingidos no meio de cultura contendo um pouco a mais que a metade da concentração salina e com a adição do regulador AIB (Figura 4).

Ferrari et al. (2016) relatam que altas concentrações salinas podem promover danos severos para o sistema radicular. Isto parece óbvio uma vez que a raiz é responsável pela absorção dos íons (macro e micronutrientes) em quantidades ideais (Khenifi; Boudjeniba; Kameli, 2011). O mesmo se aplica para o cultivo *in vitro*. Ferrari et al. (2016) constataram que o aumento da concentração salina do meio MS comprometeu o número de brotos e folhas, em cúrcuma.

Para as massas fresca (Figura 5) e seca (Figura 6) das partes aéreas das brotações, observa-se que houve interação significativa entre os percentuais do meio e as auxinas seguindo o modelo matemático polinomial quadrático e que as melhores respostas para essas variáveis foram obtidas no meio com 62 e 60% da concentração combinados com o regulador AIA, promovendo um peso de 1,40 e 0,07g, respectivamente. Os valores obtidos nessas variáveis para o regulador AIB foram de 0,99 e 0,06g nos percentuais de 55 e 52% da concentração do meio MS, respectivamente.

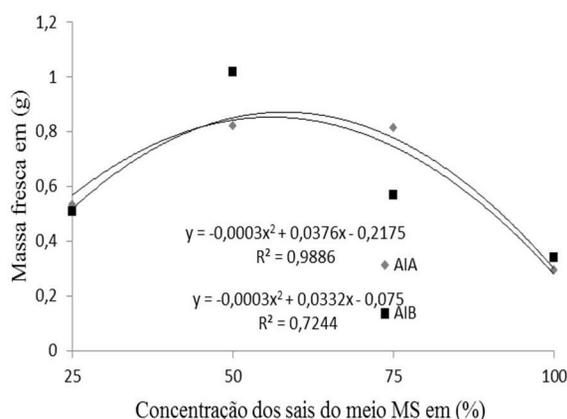


Figura 5 – Curva resposta para massa fresca da parte aérea das brotações do bastão-do-imperador (*Etilingera elatior*) cv. Porcelana em função das concentrações do meio MS aos 60 dias de cultivo *in vitro*.

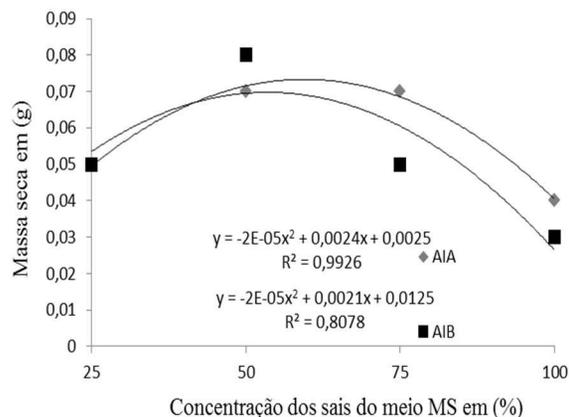


Figura 6 – Curva resposta para massa seca da parte aérea das brotações do bastão-do-imperador (*Etilingera elatior*) cv. Porcelana em função das concentrações do meio MS aos 60 dias de cultivo *in vitro*.

Ferrari et al. (2016) observaram comportamento linear crescente para massa seca da parte aérea de cúrcuma e relatam que quanto maior a concentração do meio de cultura maior os ganhos para essa característica. É importante ressaltar que o meio MS possui alta concentração de sais e nutrientes em sua composição, comparado a outros meios de cultura, necessitando muitas vezes de modificações para suprir as necessidades ideais de cada espécie (Santos-Serejo et al., 2006).

Foi constatado comportamento polinomial crescente até a concentração de 60 a 70% do meio MS e após esse intervalo, houve um decréscimo na regressão em todas as variáveis avaliadas neste modelo estatístico, evidenciando que a espécie utilizada responde bem a concentrações menores dos nutrientes que compõe o meio MS.

CONCLUSÕES

A concentração de sais do meio de cultura MS deve variar de 60 a 70% para a redução dos custos de produção comercial de na fase de alongamento das mudas micropropagadas de bastão-do-imperador cv. Porcelana.

O meio de cultura MS com aproximadamente 62,25% da concentração e sem adição de regulador promove um maior número de folhas por brotação.

A adição da auxina AIA na dose de 0,1mgL⁻¹ ao meio dentro da faixa de 60 a 70% da concentração promove maior altura dos brotos, número de raízes, massas fresca e seca das partes aéreas das brotações desta espécie.

O meio MS com 65,87% de concentração e 0,1 mg L⁻¹ de AIB promoveu o maior comprimento das raízes.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq e a EMBRAPA pelas bolsas de estudos e pelo apoio financeiro na realização dessa pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, M. S. et al. *In vitro* propagation of ginger (*Zingiber officinale* Rosco). **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, 9(2):165-172, 2011.
- ABDELMAGEED, A. H. A. et al. Micropropagation of *Etilingera elatior* (Zingiberaceae) by using axillary bud explants. **Journal of Medicinal Plants Research**, 5(18):4465-4469, 2011.
- AHMADIAN, M. P. Signaling and metabolism: The good, the bad and the future. **Nature Medicine**, 19(5):557-566, 2013.
- ASHA, K. I. et al. *In vitro* propagation of Lesser Galangal (*Alpinia calcarata* Rosc.) - a commercially important medicinal plant through rhizome bud culture. **Research in Plant Biology**, 2(5):13-17, 2012.
- BIMAL, R.; RANI, S.; PRIYADARSHINI, M. *In vitro* regeneration of *Curcuma amada* (Roxb.) through shoot tip culture. **Journal of Cell & Tissue Research**, 14(3):4587-4590, 2014.
- COLOMBO, L.A. et al. Estabelecimento de protocolo para multiplicação *in vitro* de bastão-do-imperador (*Etilingera elatior*) Jack RM Sm. **Acta Scientiarum. Agronomy**, 32(4):695-700, 2010.
- DIAS, G. M.; PASQUAL, M.; CARVALHO, A. C. P. P. Indução de calos embriogênicos em bastão-do-imperador *in vitro*. **Scientia Agraria Paranaensis**, 12(4):293-300, 2013.
- DIAS, G. M. Embryogenic induction of torch ginger (*Etilingera elatior*) callus. **Agrociencia**, 48(2):173-184, 2014.
- DITENGOU, F. A. et al. Mechanical induction of lateral root initiation in *Arabidopsis thaliana*. **The National Academy of Sciences of the USA**, 105(48):18818-18823, 2008.
- FERRARI, M. P. de S. et al. Evaluation of new protocols to *Curcuma longa* micropropagation: A medicinal and ornamental specie. **Journal of Medicinal Plants Research**, 10(25):367-376, 2016.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: A guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, 38(2):109-112, 2014.
- GIRI, D.; TAMTA, S. Effect of plant growth regulators (PGRs) on micropropagation of a vulnerable and high value medicinal plant *Hedychium spicatum*. **African Journal of Biotechnology**, 10(20):4040-4045, 2011.
- HABER, L. L. et al. Diferentes concentrações de solução nutritiva para o cultivo de *Mentha piperita* e *Melissa officinalis*. **Horticultura Brasileira**, 23(4):1006-1009, 2005.
- HARTMANN, H. T. et al. **Plant Propagation: Principles and Practices**. 7. ed. New York: Englewood Cliffs, 2002. 880p.
- HUIMEI, W.; YUANGANG, Z.; HONGMEI, L. Efficient rooting and root development after transfer of regenerated plantlets of *Camptotheca acuminata*. **Eurasian Journal of Forest Research**, 10(2):179-184, 2007.
- ISLAM, M. A.; KLOPPSTECH, K.; JACOBSEN, H. J. Efficient procedure for *in vitro* microrhizome induction in *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae) – A medicinal plant of tropical Asia. **Plant Tissue Culture**, 14(2):123-134, 2004.
- JAAFAR, F. M. et al. Analysis of essential oils of leaves, stems, flowers and rhizomes of *Etilingera elatior* (Jack) R.M. **The Malaysian Journal of Analytical Sciences**, 11(1):269-273, 2007.
- JUALANG, A. G. et al. *In vitro* shoot regeneration from rhizome bud of native ginger in Borneo, *Etilingera Coccinea*. **Journal of Tropical Plant Physiology**, 7(1):36-46, 2015.
- JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. O setor produtivo de flores e plantas ornamentais do Brasil, no período de 2008 a 2013: Atualizações, balanços e perspectivas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, 20(2):115-120, 2014.
- KAMBASKA, K. B.; SANTILATA S. Effect of plant growth regulator on micropropagation of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) cv-supava and Suruchi. **Journal of Agricultural Technology**, 5(2):271-280, 2009.
- KARIM, A.; MUNIR, S. A newly developed method for rapid propagation of an important culinary and medicinal herb (*Etilingera elatior*). **Insight Ethnopharmacology**, 1(1):3-4, 2011.

- KHENIFI, M. L.; BOUDJENIBA, M.; KAMELI, A. Effects of salt stress on micropropagation of potato (*Solanum tuberosum* L.). **African Journal of Biotechnology**, 10(40):7840-7845, 2011.
- LAMAS, A. M. **Floricultura tropical: Técnicas de cultivo**. Recife: SEBRAE/PE, 2002. 86p. (Série Empreendedor, 5).
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, 15(1):473-497, 1962.
- OLIVEIRA, J. F. et al. Germinação de embriões e multiplicação *in vitro* de *Etlingera elatior* (Jack) R.M.Smith. **Ciência Agrícola**, 10(1):31-38, 2012.
- PEREIRA, J. E. S.; FORTES, G. R. L. Protocolo para produção de material propagativo de batata em meio líquido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 38(9):1035-1043, 2003.
- RESCAROLLI, C. L. S.; ZAFFARI, G. R. Produção de mudas de *Etlingera elatior* (Jack) R.M. Sm. através da cultura de tecidos vegetais *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 11(2):190-195, 2009.
- RIBEIRO, T. R. et al. Bastão-do-imperador. In: PAIVA, P. D. O.; ALMEIDA, E. F. A. **Produção de flores de corte**. Lavras: Editora UFLA, 2012. p.90-103.
- SANTOS-SEREJO, J. A. dos et al. Meios nutritivos para micropropagação de plantas. In: SOUZA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006, p.79-98.
- SRIDHAR, T. M.; ASWATH, C. R. A. Comprehensive study on role of natural organic extracts in tissue culture medium. **American Journal of Plant Sciences**, 5(20):3073-3088, 2014.
- SHARMA, R. **Biomass and cell culturing techniques**. New Delhi: Biotech. Books, 2006, 287p.
- SHARMIN, S. A. et al. Micropropagation and antimicrobial activity of *Curcuma aromatica* Salisb., a threatened aromatic medicinal plant. **Turkish Journal of Biology**, 37(1):698-708, 2013.
- SILVA JÚNIOR, J. M. et al. Efficiency of urea usage and growth regulators on *in vitro* propagation of *Etlingera elatior*. **Revista Incelências**, 4(1):1-15, 2015.
- VERMA, M.; BANSAL, Y. K. Effect of a potent cytokinin thidiazuron (TDZ) on *in vitro* regeneration of *Hedychium coronarium* J. Koenig – A valuable medicinal plant. **International Journal of Recent Biotechnology**, 2(1):38-44, 2014.
- YILDIZ, M. The prerequisite of the success in plant tissue culture: High frequency shoot regeneration. In: LEVA, A.; RINALDI, L. M. R. (Eds). **Recent Advances in Plant in vitro Culture**: Intech. Rijeka, 2012, p. 63-90.
- YUNUS, M. F. et al. *In vitro* propagation of *Etlingera elatior* (Jack) (Torch ginger). **Scientia Horticulturae**, 135(24):145-150, 2012.
- YUNUS, M.F. et. al. In vitro mutagenesis of *Etlingera elatior* (Jack) and early detection of mutation using RAPD markers. **Turkish Journal of Biology**, 6(37): 716-725, 2013.