CULTIVO IN VITRO DE Cattleya dowiana (ORCHIDACEAE) EM MEIOS ALTERNATIVOS

CULTIVO IN VITRO DE Cattleya dowiana (ORCHIDACEAE) EN MEDIOS ALTERNATIVOS

IN VITRO CULTIVATION OF Cattleya dowiana (ORCHIDACEAE) IN ALTERNATIVE CULTURE MEDIUMS

Apresentação: Pôster

João Eliézer de Souza Batista¹; Cibele Mantovani²; Pedro Thomaz de Lima Bertazi³; Lorena Bezerra de Medeiros⁴; Kathia Fernandes Lopes Pivetta⁵

INTRODUÇÃO

Apreciadas em todo o mundo, as orquídeas são tradicionalmente colecionadas e cultivadas, tanto para vaso como flor de corte, sendo uma atividade economicamente consolidada; as orquídeas cultivadas para corte mais produzidas e comercializadas são espécies ou híbridos dos gêneros *Cattleya, Cymbidium, Dendrobium* (Denphal), *Oncidium* e *Phalaenopsis* (PIVETTA et al., 2014).

Cattleya dowiana Bateman (1866) apresenta grande valor ornamental devido ao grande número de hastes florais na planta, tamanho, cor e perfume das flores sendo uma das poucas espécies com flores de coloração amarela, sepálas e pétalas são e cor amarelo-pálido e o labelo róseo com veias amarelas e perfume de baunilha; diferentes subsespécies ocorrem naturalmente em Costa Rica, Panamá e Colombia, porém, encontra-se ameaçada de extinção em seu habita natural (SNYDER, 1992; POVEDA e LEÓN, 2000; HAMMEL et al., 2003; MORALES e DRESSLER, 2006; PUPULIN, 2015).

As orquídeas são multiplicadas comercialmente por meio de micropropagação e semeadura *in vitro*; ambos os processos são dependentes do cultivo em meio de cultura, cuja

⁵ Professora Assistente Doutora, FCAV Unesp, kathiaflpivetta@hotmail.com



¹ Engenharia Agronômica, FCAV Unesp, joaoeliezer12@gmail.com

² Doutora em Agronomia (Produção Vegetal), FCAV Unesp, orquidariomantovani@gmail.com

³ Engenharia Agronômica, FCAV Unesp, thomaz.lima@unesp.br

⁴ Engenharia Agronômica, FCAV Unesp, lorenamedeiros 1999@hotmail.com

CULTIVO IN VITRO DE Cattleya dowiana EM MEIOS ALTERNATIVOS

composição pode ser bastante variável inferindo diferentes respostas na qualidade das plantas, dependendo da espécie.

Atualmente há no mercado vários produtos que podem ser utilizados na composição do meio de cultura, podendo ser associados ou não à componentes orgânicos como polpa de frutas e água de coco, visando obter mudas de alta qualidade com menor custo.

Devido à importância ecológica e econômica da espécie e visando alternativas de produção de mudas em larga escala, com qualidade e baixo custo, este trabalho teve como objetivo analisar a eficiência de meios de cultivo alternativos no crescimento e desenvolvimento *in vitro* de plântulas *Cattleya dowiana* Bateman (1866).

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Uma das formas de multiplicação comercial de orquídeas é por meio de sementes; no entanto, é necessário que entrem em contato com um fungo simbiótico ou deve-se proceder à semeadura *in vitro* (FARIA et al., 2010). No cultivo *in vitro*, as plantas perdem parcialmente o autotrofismo e, consequentemente, necessitam de uma fonte exógena de carboidratos; a melhor fonte e concentração de carboidrato dependem principalmente da espécie vegetal e da fase do processo de desenvolvimento (NICOLOSO et al., 2003).

A composição do meio de cultura é essencial para a germinação e desenvolvimento das sementes e plantas cultivadas *in vitro*, pois concentra os nutrientes necessários para sua nutrição (UNEMOTO et al., 2006). Deve também dar condições de desenvolvimento para as plantas, por um período relativamente longo. Por isso, substâncias orgânicas são adicionadas ao meio de cultura para complementar as substâncias biossintetizadas pelas células vegetais e para suprir as vias metabólicas, energéticas e estruturais destas (CALDAS et al., 1998). Contudo, Campos (2002), afirmou não existir um protocolo para cada gênero ou espécie de orquídeas, fato que se mantém atual pelo grande número de gêneros e espécies a ser estudado somado ao desenvolvimento lento das plantas da família Orchidaceae, que culminam no ritmo lento em obtenção de resultados para a elaboração de protocolos específicos.

A partir dos trabalhos de Lewis Knudson, em 1921, que possibilitou a reprodução de orquídeas por sementes, cultivando em meio de cultura, têm surgido inúmeras formulações desses meios visando otimizar e baratear o desenvolvimento *in vitro* dessas plantas (CAMPOS, 2004).

No cultivo de orquídeas *in vitro* existem vários relatos da utilização de polpas de frutas na formulação de meios nutritivos, como polpa de banana (WITHNER, 1974; STANCATO et al., 2008) que foi utilizada pela primeira vez em meio de cultura para germinação de sementes



de orquídeas no Brasil (ARDITTI e ERNST, 1992). Esta fruta é reconhecida como importante componente para o meio de cultivo de orquídeas. Diversos autores sugerem que a polpa da banana é o melhor suplemento para a diferenciação de órgãos e promotor do crescimento de raízes e folhas de orquídeas *in vitro* (VALMAYOR e PRICE, 1970; CALDAS et al., 1998; STANCATO et al., 2008).

METODOLOGIA

Foi realizada pesquisa de caráter experimental e quantitativo. O experimento foi conduzido no munícipio de Jaboticabal-SP (Latitude: 21° 15′ 19″ S; Longitude: 48° 19′ 21″ W), nos domínios do Departamento da Ciência da Produção Agrícola, da FCAV Unesp.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado. Foram cinco tratamentos:

1) Meio Murashige e Skoog - MS (controle); 2) Kristalon® laranja; 3) Hyponex®; 4) Plantprod® e 5) Petters®. Foram quatro repetições e 20 plântulas por frasco sendo que cada frasco representou uma parcela.

Para a realização do trabalho foi utilizada uma cápsula madura de *Cattleya dowiana*, da qual foi conduzida a semeadura *in vitro* em condições assépticas utilizando meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962). Aos 90 dias após a semeadura as plântulas foram inoculadas nos tratamentos: MS (controle); 3 g L⁻¹ de fertilizante Kristalon® laranja (6-12-36); 3 g L⁻¹ de fertilizante Hyponex® (6-6,5-19); 3 g L⁻¹ de fertilizante Plantprod® (20-20-20) e 3 g L⁻¹ de fertilizante Petters® (9-45-15). Em cada tratamento foi adicionado 60 g L⁻¹ de polpa de banana, 30 g L⁻¹ de açúcar de uso doméstico, 6 g L⁻¹ de ágar e 2 g L⁻¹ de carvão ativado.

Após 210 dias da semeadura, cinco plantas por tratamento foram examinadas: características biométricas avaliadas: número de folhas, número de raízes, altura da parte aérea (mm), comprimento radicular (mm), área foliar (cm²); massa seca da parte aérea (mg) e massa seca de raízes (mg), onde as plantas foram retiradas dos frascos e separadas em sistema radicular e parte aérea, embaladas em sacos de papel e colocadas em estufa de circulação de ar forçada, a 65 °C até atingirem massa constante.

O restante do material foi poupado da avaliação destrutiva e, levado à casa de vegetação em bandejas plásticas de 60 furos, com células acondicionadas com musgo esfagno. Após 60 dias da aclimatização, avaliou-se a taxa de sobrevivência (%). Os valores coletados foram submetidos a análise de variância pelo teste F e quando significativos foram submetidos a comparação de médias pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o *software* estatístico AgroEstat® (BARBOSA e MALDONADO JÚNIOR, 2015).



RESULTADOS E DISCUSSÃO

O aspecto morfológico das plantas não apresentou diferença significativa, quanto ao número de folhas e número de raízes, entre os tratamentos. Tais características não foram influenciadas pela variação do meio de cultivo (Tabela 01).

Tabela 01: O Número de folhas (NF), número de raízes, altura da parte aérea (mm), comprimento radicular (mm), área foliar (cm2), massa de matéria seca da parte aérea (mg) e massa de matéria seca das raízes (mg) de *C. dowiana* em função do meio de cultivo *in vitro* aos 210 dias após a semeadura e sobrevivência (%) após 60 dias da aclimatização. Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tratamento	Nº de	$N^o de$	Altura	Comp.	Área	MS PA	MS	Sobrevivência
	folhas	raízes	da PA	radicular	foliar	(mg)	raízes	(%)
			(mm)	(mm)	(cm^2)		(mg)	
MS	5,8 a	6,4 a	59,3 a	53,2 ab	3,1 a	18,2 a	25,2 b	23,8 d
Kristalon	5,2 a	4,8 a	41,9 b	48,3 ab	1,1 b	7,6 b	22,1 b	64,6 a
Hyponex	5,4 a	6,2 a	32,9 bc	66,3 a	1,1 b	9,3 b	48,6 a	42,2 b
Plant Prod	5,8 a	5,4 a	33,6 bc	38,7 bc	1,0 b	6,9 b	27,4 b	39,2 c
Petters	5,2 a	5,2 a	26,2 c	14,9 c	0,3 с	2,5 c	4,56 c	10,8 e
C.V. (%)	27,2	27,9	16,4	29,2	26,6	25,8	21,1	3,5

Fonte: Própria (2019).

O meio nutritivo convencional MS (controle) proporcionou maior média para altura da parte aérea, área foliar e massa seca da parte aérea quando comparado aos meios alternativos, seguido pelo tratamento Kristalon®, que teve a maior taxa de sobrevivência. Maior eficiência do Kristalon® também foi verificada no desenvolvimento *in vitro* das orquídeas *Cattleya loddigesii* (MORAES et al., 2009) e de um híbrido de *Cattleya* (CORDEIRO et al., 2011). Hyponex® proporcionou maior comprimento radicular e massa seca de raízes; favoreceu o cultivo *in vitro* assim como foi verificado por Cunha (2011) na produção de mudas da orquídea *Laeliocattleya schilleriana*.

Embora o tratamento controle (meio MS) tenha obtido melhor performance nas condições *in vitro*, apresentou a menor taxa de sobrevivência na condição de aclimatização seguido pelo meio composto por Petters®, que não se mostrou efetivo, igualmente, nas condições *in vitro*. O aumento da área foliar e altura da parte aérea, conferidos pelo meio MS, podem ter colaborados para a maior desidratação e dificuldade em manter o potencial hídrico das plantas positivo, em relação ao ambiente *ex vitro*, o que acarretou uma baixa taxa de sobrevivência desse tratamento em casa de vegetação. Por outro lado, a extenuação do vegetal observado no tratamento Petters® não ofereceu condições às plântulas de desenvolverem



características adaptativas de resistência contra o estresse abiótico e biótico das condições ambientais.

CONCLUSÕES

Dentre os meios de cultivos alternativos, os compostos por Kristalon® e Hyponex® promoveram melhor crescimento das plântulas *in vitro*, na produção de mudas de *Cattleya dowiana* quando comparados com os demais fertilizantes podendo ser uma alternativa ao controle. O meio alternativo Kristalon® além de promover bom desempenho em condições *in vitro*, foi o que proporcionou maior taxa de sobrevivência em condições *ex vitro*.

REFERÊNCIAS

ARDITTI, J.; ERNST, R. **Micropropagation of orchids**. New York: John Wiley & Sons, Interscience publication, 1992. 691p.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JÚNIOR, R.W. **AgroEstat** - sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos. Jaboticabal: Unesp, 2015. 396p.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas. Brasília: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1998, v. 1, 864 p.

CAMPOS, D. M. Cultura *in vitro* simplificada. **O Mundo das Orquídeas**, São Paulo, n. 36, p. 52-53, 2004.

CAMPOS, D. M. **Orquídeas: Micropropagação e quimioterapia de meristemas**, Rio de Janeiro; Ed. Expressão e Cultura, 2002.

CORDEIRO, G.M.; MORAES, C.P.de; MASSARO, R.; CUNHA, T. Desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya amethystoglossa* Lindley X (*Cattleya dupreana* X *Laelia purpurata* Lindley) em diferentes meios de cultura. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v.18, n.1, p.22-28, 2011.

CUNHA T.; CORDEIRO, G.M.; MASSARO, R., DEZAN, L.F.; PEDROSO-DE- MORAES, C. Desenvolvimento in vitro de Laeliocattleya schilleriana Rolfe em meios de cultivo simplificados. Scientia Plena, 2011, 7, 1-5.

FARIA, R.T. et al. Cultivo de orquídeas. Londrina: Mecenas, 2010. 208p.

HAMMEL B.; GRAYUM H.; HERRERA C.; ZAMORA N. Manual de plantas de Costa Rica. Vol. III. Monocotiledóneas (Orchidaceae-Zingiberaceae). Saint Louis: Missouri Botanical Gardens Press, 2003. 884p.

MORAES, C. P. de; DIOGO. J. A.; PEDRO, N. P.; CANABRAVA, R. I.; MARTINI, G. de A.; MARTELINE, M.A.Desenvolvimento in vitro de Cattleya loddigesii Lindley



CULTIVO IN VITRO DE Cattleya dowiana EM MEIOS ALTERNATIVOS

(Orchidaceae) utilizando fertilizantes comerciais. Revista Brasileira de Biociências, v. 7, n. 1, p. 67-69, 2009.

MORALES F.; DRESSLER R. 2006. Cattleya dowiana Batem. (Guaria de Turrialba,

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for a rapid growth and biossays with tabacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, v.15,p. 473-497, 1962.

NICOLOSO, F.T. et al. Efeitos de doses e fontes de carboidratos no crescimento de plantas de ginseng brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen] cultivadas *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, n.1, p.84-90, 2003.

PIVETTA, K. F. L.; YANAGISAWA, S.S.; FARIA, R. T. de; MATTIUZ, C.F.M.; TAKANE, R.J.; BATISTA, G. S.. Orquídeas. In: PAIVA, P.D.O.; ALMEIDA, E.F.A. (Org.). **Produção de Flores de Corte**. 1ed.Lavras, MG: UFLA, 2014, v. 2, p. 454-510.

POVEDA L.; LEÓN J. Nombres comunes de plantas en Costa Rica. San José: Editorial Guayacán, 2000. 915p.

PUPULIN F. A new form of *Cattleya dowiana* and the taxonomy of its color variations. **Bulletin of the American Orchid Society**. v.84, n.1, p.46-54, 2015.

SNYDER, G. Costa Rican Orchids: The five Most Endangered Species. Amer. Orch. Soc. Bull. 1992. 61:28-33.

STANCATO, G.C.; ABREU, M.F.; FURLANI, A.M.C. Crescimento de orquídeas epífitas in vitro: adição de polpa de frutos. **Bragantia**, v.67, n.1, p.51-57, 2008.

UNEMOTO, L. K.; FARIA, R. T.; MENEGUCE, B.; ASSIS, A. M. Estabelecimento de um protocolo para a propagação *in vitro* de rainha-do-abismo, *Sinningia leucotricha* (Hoehne) Moore - (Gesneriaceae). **Acta Scientiarum**, v. 28, n. 4, p. 503-506, 2006.

VALMAYOR, H.L.; PRICE, G.R. Banana fruit pulp: a good medium for growing orchids. **Agriculture at Los Banos**, v.9, n.4, p.142-152, 1970.

WHITNER, C.L. The *Cattleyas* and their relatives. The *Cattleyas*, v.1. **Timber Press**, Portland., 1974.

