



NOTA CIENTÍFICA

Desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae) utilizando fertilizantes comerciais

Cristiano Pedroso de Moraes^{1,2*}, José Alberto Diogo³, Natália Pierobon Pedro³,
Rosângela Isete Canabrava³, Gisela de Assis Martini³ e Marco Aurélio Marteline¹

Submetido em: 18 de novembro de 2008 Recebido após revisão em: 09 de fevereiro de 2009 Aceito em: 06 de março de 2009

Disponível em: <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1134>

RESUMO: (Desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae) utilizando fertilizantes comerciais). A propagação massal via sementeira *in vitro* constitui ferramenta indispensável para propagação das principais espécies de orquídeas em extinção como, por exemplo, *Cattleya loddigesii* Lindl., a qual devido a sua ampla utilização na obtenção de híbridos acabou ocupando lugar de destaque em listas de espécies ameaçadas. Devido a este fator, o presente trabalho teve por objetivo estudar aspectos do desenvolvimento *in vitro* desta espécie mediante a avaliação do efeito do meio de cultura MS, e de dois meios à base de fertilizantes, Hyponex e Kristalon laranja. Após 180 dias de cultivo, inferiu-se que o meio de cultura mais eficiente para a germinação e o desenvolvimento *in vitro* de sementes foi aquele a base do fertilizante Kristalon laranja, que apresentou as maiores médias para altura da planta, peso da matéria fresca e matéria seca e comprimento da maior raiz e folha, podendo dessa forma ser utilizado tanto comercialmente quanto em programas de sementeira para posterior recomposição de áreas degradadas, por apresentar maior facilidade e baixo custo de produção.

Palavras-chave: orquídea, *Cattleya loddigesii*, propagação *in vitro*

ABSTRACT: (*In vitro* development of *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae) using commercial fertilizers). The massal propagation through sowing seeds is an important method for propagation orchid species in danger extinction, like *Cattleya loddigesii* Lindl. the one widely used to obtain hybrids and occupying a featured place in a list of threatened species. The objective of the present work is to study some aspects of the *in vitro* development of this species using as parameters for evaluation, the effect of MS culture media and two media based on fertilizers, Hyponex and Kristalon laranja. After 180 days of culture, it was inferred that the most efficient media culture for the germination and development of seeds was based on Kristalon laranja fertilizer, that presented the higher height and weight plant media, the higher fresh and dry weight and the higher root and leaf length. This culture medium is able to be used in such way commercially and in sowing programs, to resetting of degraded areas, to present great easiness and low production costs.

Key words: orchid, *Cattleya loddigessi*, *in vitro* propagation

INTRODUÇÃO

As orquídeas são muito apreciadas mundialmente, embora nos países latino-americanos apresentem alto custo de produção (Trujillo & Hernández 1999).

Comercialmente, o cultivo de espécies do gênero *Cattleya* é de grande importância para o agronegócio florícola mundial devido, principalmente, a ampla capacidade de recombinação genética, beleza, forma, tamanho e durabilidade de suas flores (Zanenga-Godoy & Costa 2003). Entre as orquídeas do gênero *Cattleya*, amplamente utilizadas na obtenção de híbridos, está a *Cattleya loddigesii* Lindl. Tal fato, aliado a grande depredação de ambientes naturais ocorrida em décadas passadas, foram os responsáveis por esta orquídea encontrar-se em risco de extinção no estado do Rio Grande do Sul, sendo sua atual situação desconhecida nos demais estados, onde é endêmica (Baptista & Longhi-Wagner 1998).

A sementeira *in vitro* representa indispensável ferramenta para a propagação massal das principais espécies de orquídeas ameaçadas de extinção (Santos *et al.* 2006).

Entretanto, por falta de conhecimento e de informações em relação à nutrição dessas plantas, os orquicultores empregam meios de cultivo complexos, com diversos nutrientes, vitaminas e reguladores de crescimento (Ventura *et al.* 2002), elevando os custos desta forma de propagação. Estudos *in vitro*, realizados por Stancato *et al.* (2001), demonstram que a diminuição de custos é possível, pela simplificação dos meios de cultura atuais, principalmente pelo emprego de fertilizantes como base de meios de cultura, visando a produção em larga escala de alguns representantes do gênero *Cattleya*, que requerem condições de cultivo específicas. As plantas produzidas desta forma são altamente interessantes para programas de reintrodução de espécies nativas em áreas de preservação ambiental, pois a cultura assimbiótica resulta em maiores percentuais de germinação, em comparação com a germinação em condições naturais (Santos *et al.* 2006).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o desenvolvimento de plântulas pós-germinação de *Cattleya loddigesii* em meio de cultura MS (Murashige & Skoog

1. NUCIA, Núcleo de Ciências Ambientais do Centro Universitário Hermínio Ometto, UNIARARAS. Avenida Maximiliano Baruto 500, CEP 13607-339, Araras, SP, Brasil.

2. Doutorando. Departamento de Botânica, IBUNESP, Rio Claro. Caixa Postal 199, CEP 13506-900, Rio Claro, SP, Brasil.

3. Aluno de Graduação em Bacharelado e Ciências Biológicas do Centro Universitário Hermínio Ometto, UNIARARAS. Avenida Maximiliano Baruto 500, CEP 13607-339, Araras, SP, Brasil.

*Autor para contato. E-mail: pedroso@uniararas.br

1962), e em dois meios complexos, compostos pelos fertilizantes Hyponex (NPK 6,5-6-19) e Kristalon laranja (NPK 6-12-36), durante o período de 180 dias de cultivo *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do trabalho, cinco flores de diferentes indivíduos de *Cattleya loddigesii* foram autopolinizadas artificialmente em setembro de 2006. Seis meses após a autopolinização, foram coletadas sementes dos frutos maduros, as quais foram levadas ao Laboratório de Botânica e Análises Ambientais do Centro Universitário Hermínio Ometto – Uniararas.

Foram preparados três tipos de meios de cultura, sendo o primeiro composto por metade da concentração de macronutrientes do meio MS (Murashige & Skoog 1962), o qual foi usado como controle, e os outros dois por meio Hyponex e Kristalon laranja a 2 g.L⁻¹, acrescidos de 1 g.L⁻¹ de carvão ativado, 30 g.L⁻¹ de sacarose com pH ajustado para pH 5,8 antes da adição de 7 g.L⁻¹ de agar-banana. Logo após, 50 mL de cada meio de cultura foram vertidos em quatro frascos de 250 mL e esterilizados em autoclave a 121°C e 1 atm de pressão durante 20 minutos (Arditti & Ernest 1992).

Para a desinfestação das sementes, optou-se pela utilização de hipoclorito de sódio a 5%, as quais foram submetidas à agitação na solução durante cinco minutos, em tubos Eppendorf®. Posteriormente, os tubos foram mergulhados em álcool 70% e levados à câmara de fluxo laminar, onde as sementes foram lavadas quatro vezes em água destilada com o auxílio de seringa de 1 mL. Ainda utilizando-se da seringa, as sementes, juntamente com 1 mL de água destilada, foram depositadas nos frascos contendo os meios de cultura (Arditti & Ernest 1992). Os frascos semeados foram fechados com tampa plástica transparente e mantidos durante 180 dias em câmara climática (B.O.D MA 403), à temperatura constante de 25 ± 2°C, com um fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa de aproximadamente 116 µmol.m⁻².s⁻¹.

Foram semeados quatro frascos por tratamentos sendo inoculadas, por recipiente, 1 g de sementes. A densidade de semeadura alcançada nos frascos foi de aproximadamente 75% para todos os meios, com desenvolvimento de cerca de 50 plântulas por frasco. Para a análise estatística, foram utilizados cinco indivíduos de cada recipiente, retirados aleatoriamente dos meios de cultura.

Os dados referentes à altura das plântulas (AP), número de raízes (NR), peso da massa fresca (MF) e matéria seca (MS), comprimento da maior raiz (CMR) e maior folha (CMF), das cinco plantas de cada frasco, foram submetidos à análise de variância e a comparação entre as médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Vale ressaltar que, para a análise estatística, foram utilizados os dados brutos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que as plantas de *C. loddigesii*, cultivadas em meio de cultura suplementado com o fertilizante Kristalon laranja, apresentaram significativamente as maiores médias para as variáveis altura das plântulas (AP), matéria fresca (MF) e matéria seca (MS), comprimento da maior raiz (CMR) e maior folha (CMF), quando comparados aos meios MS e com Hyponex (Tab. 1).

Tais resultados podem ser explicados pela existência de uma relação quadrática entre as variáveis analisadas em plântulas submetidas a doses balanceadas de nitrogênio nítrico e amoniacal, em que se obtêm, principalmente, o aumento de matéria fresca, seguida da matéria seca e da altura de plântulas, com ênfase no desenvolvimento do sistema radicular (Bernardi et al. 2004). Esta afirmação é confirmada por resultados semelhantes obtidos em pesquisas realizadas por Wen & Hew, (1993), Pan & Chen (1994) e Powell et al. (1988), para orquídeas terrestres do gênero *Cymbidium*, nas quais foram constatadas que para orquídeas deste gênero, doses semelhantes das duas fontes de nitrogênio influenciaram positivamente as variáveis acima citadas, principalmente em relação ao desenvolvimento do sistema radicular.

O meio de cultura MS e o suplementado com Hyponex não apresentaram diferenças significativas quanto à altura das plântulas (AP), matéria fresca (MF) e seca (MS). Para comprimento da maior raiz (CMR), o meio MS suplantou a média do meio Hyponex, sendo que o inverso ocorreu com a variável comprimento da maior folha (CMF), possivelmente devido à menor percentagem de nitrogênio existente no fertilizante quando comparado ao meio MS.

As plantas cultivadas em meio de cultura acrescido de Hyponex apresentaram os melhores resultados estatísticos para a variável número de raízes (NR), o que corrobora os resultados encontrados em bromélias por F.

Tabela 1. Valores médios para a altura das plântulas (AP), número de raízes (NR), matéria fresca (MF), matéria seca (MS), comprimento da maior raiz (CMR) e comprimento da maior folha (CMF) de *C. loddigesii*, após 180 dias cultivo em três meios de cultura avaliados MS/2 (Murashige & Skoog, 1962), com metade da concentração de macronutrientes (HY, Hyponex; KR, Kristalon). DP, Desvio Padrão; CV, Coeficiente de Variação.

Meios de Cultura	AP (cm)	NR	MF (g)	MS (g)	CMR (cm)	CMF (cm)
MS	2,92 a1	1,8 a	0,09 a	0,007 a	3,09 a	0,44 a
HY	2,57 a	4.15 b	0,05 b	0,007 a	1,47 b	1,11 b
KR	6,05 b	2.55 c	0,22 c	0,012 b	3,99 c	1,37 c
DP	0,69	0,53	0,02	0,004	0,12	0,17
CV%	18,10	19,66	19,43	20,04	19,52	18,68

Médias seguidas de letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de significância.

Grossi (dados não publicados), para *Aechmea nudicaulis*, e por Kanashiro *et al.* (2007), para *Aechmea blanchetiana*, nas quais o número de raízes decresceu linearmente com o aumento da concentração de nitrogênio amoniacal no meio MS modificado.

A mesma tendência para a variável número de raízes, foi encontrada por Russowski & Nicoloso (2003), trabalhando com *Pfaffia glomerata*, os quais obtiveram maior número de raízes na concentração 50% de nitrato de amônio contido no meio MS e tendendo ao decréscimo nas maiores concentrações. Dessa forma, é possível inferir que a percentagem mais baixa de nitrogênio amoniacal encontrada no fertilizante Hyponex, em relação ao meio MS e ao fertilizante Kristalon, foi a responsável direta pela melhor média apresentada para esta característica.

CONCLUSÃO

O meio de cultura suplementado com o fertilizante Kristalon laranja demonstrou ser o mais eficaz no desenvolvimento *in vitro* de plântulas de *Cattleya loddigesii* considerando-se altura da planta, matéria fresca e matéria seca, comprimento da maior raiz e da folha, podendo ser utilizado tanto comercialmente quanto em programas de semeadura para recomposição de áreas degradadas, por apresentar maior facilidade e baixo custo de produção em relação ao meio MS e ao meio à base de fertilizante Hyponex. O meio à base do fertilizante Hyponex pode ser utilizado quando há necessidade de amplo desenvolvimento de sistemas radiculares.

REFERÊNCIAS

- ARDITTI, J. & ERNEST, R. 1992. *Micropropagation of orchids*. New York: John Wiley & Sons. 682p.
- BAPTISTA, L.R.M. & LONGHI-WAGNER, H.M. (coord.). 1998. *Lista preliminar de espécies ameaçadas da flora do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre. Sociedade Botânica do Brasil. 72p.
- BERNARDI, A.C.; FARIA, R.T.; CARVALHO, J.F.R.P.; UNEMOTO, L.K. & ASSIS, A.M. 2004. Desenvolvimento vegetativo de *Dendrobium nobile* Lindl. fertirrigadas com diferentes concentrações da solução nutritiva de Sarruge. *Semina: Ciências Agrárias*, 25(1): 13-20.
- KANASHIRO, S.; RIBEIRO, R.C.S.; GONÇALVES, A.N.; DIAS, C.T.S. & JOCYS, T. 2007. Efeitos de diferentes concentrações de nitrogênio no crescimento de *Aechmea blanchetiana* (Baker) L.B. Sm. cultivada *in vitro*. *Hoehnea*, 34(1): 59-66.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F.A. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497.
- PAN, R.C. & CHEN, J.X. 1994. Effects of nitrate-nitrogen and ammonium-nitrogen on growth and development in *Cymbidium sinensis*. *Acta Botanica Yunnanica*, 16(3): 285-290.
- POWELL, C.L.; CALDWELL, K.I.; LITTLER, R.A. & WARRINGTON, I. 1988. Effect of temperature regime and nitrogen fertilizer level on vegetative and reproductive bud development in *Cymbidium* orchids. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 113: 552-556.
- RUSSOWSKI, D. & NICOLOSO, F.T. 2003. Nitrogênio e fósforo no crescimento de plantas de gengibre brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen] cultivadas *in vitro*. *Ciência Rural*, 33: 57-63.
- SANTOS, A.F.; VENTURA, G.M.; DIAS, J.M.M.; GOULART, M.S.; NOVAIS, R.F.; CECON, P.R.; TEIXEIRA, S.L. & MOURA, E. 2006. Otimização da propagação de *Sophranitis coccinea* (Orchidaceae) considerando meios de cultivo com adição de carvão ativado. *Horta*, 46: 8-12.
- STANCATO, G.C.; BELMELMONS, P.F. & VEGRO, C.R.L. 2001. Produção de mudas de orquídeas a partir de sementes *in vitro* e sua viabilidade econômica: estudo de caso. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, 7: 25-33.
- TRUJILLO, G. & HERNÁNDEZ, Y. 1999. Bacterial spot in orchid. *Fitopatologia Venezolana*, 12(1): 4-8.
- VENTURA, G.M.; DIAS, J.M.M.; TEIXEIRA, L.S.; CARVALHOS, S.V.; MOTOIKE, Y.S.; NOVAIS, F.R. & CECON, R.P. 2002. Organogênese *in vitro* a partir de gemas apicais e axilares de plantas adultas de orquídeas do grupo *Cattleya*. *Revista Ceres*, 47(286): 613-628.
- WEN, Z.Q. & HEW, C.S. 1993. Effects of nitrate and ammonium on photosynthesis nitrogen assimilation and growth of *Cymbidium sinense*. *Journal of the Singapore National Academy of Science*, 20(21): 21-23.
- ZANENGA-GODOY, R. & COSTA, C.G. 2003. Anatomia foliar de quatro espécies do gênero *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) do Planalto Central Brasileiro. *Acta Botanica Brasílica*, 17(1): 101-118.