

## **Avaliação de diferentes meios nutritivos para a germinação assimbiótica de *Cattleya labiata*.**

Melo, Gemima Manço de<sup>1</sup>; Paulino, Patrícia Maria de Souza<sup>1</sup>; Ulisses, Cláudia<sup>2</sup>; Camara, Terezinha Rangel<sup>3</sup>; Albuquerque, Cynthia Cavalcanti de<sup>4</sup>; Willadino, Lilia<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Graduanda do Curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas, Bolsista PIBIC/CNPq (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, CEP 52171-900, Recife, Pernambuco, fone (81) 3320-6364, email: [gemimamelo81@yahoo.com.br](mailto:gemimamelo81@yahoo.com.br); [patriciaaaso\\_1@hotmail.com](mailto:patriciaaaso_1@hotmail.com); <sup>2</sup>Professora da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UFRPE), Avenida Bom Pastor, s/n, CEP 55296-901, Garanhuns, Pernambuco, fone (87) 3761-0969, email: [claudia@nlink.com.br](mailto:claudia@nlink.com.br); <sup>3</sup>Professora do Departamento de Química – Área Química Agrícola (UFRPE), email: [tkrcamara@bol.com.br](mailto:tkrcamara@bol.com.br); <sup>4</sup>Professora do Departamento de Ciências Biológicas (UERN), Rua Professor Antonio Campos, s/n, BR 110 Km 46, CEP 59600-000, Mossoró, Rio Grande do Norte, fone (81) 3315-2231, email: [cynthiaca@uol.com.br](mailto:cynthiaca@uol.com.br); <sup>5</sup>Professora do Departamento de Biologia – Área de Botânica (UFRPE), email: [lilia@truenet.com.br](mailto:lilia@truenet.com.br).

### **INTRODUÇÃO**

Pertencente a família Orchidaceae, as orquídeas apresentam flores belas com cores e formatos variados. O número total de espécies oscila em torno de 35.000, espalhadas pelos quatro cantos do mundo (Watanab, 2002).

As orquídeas apresentam um grande potencial para utilização na floricultura tanto como plantas de vaso como flores de corte, na composição de arranjos florais e buquês de noivas (Lorenzi & Souza, 1996). O gênero *Cattleya* possui cerca de 70 espécies, sendo uma das orquídeas mais populares (Watanab, 2002).

Em seu hábitat natural, as sementes de orquídea germinam através de uma relação simbiótica com fungos micorrizicos, os quais fornecem os nutrientes necessários para o desenvolvimento da plântula, até que ela possa fotossintetizar (Stancanto *et al*, 2001). Já na cultura assimbiótica, as sementes são cultivadas *in vitro*, em meio nutritivo que também fornece os nutrientes essenciais para que ocorra o desenvolvimento da plântula.

De acordo com Knudson (1922), é possível germinar sementes de orquídeas, em um meio simples com minerais e açúcares, sem necessitar da presença do fungo, porém nem sempre é possível fazer um meio em que uma determinada espécie de orquídea germine e se desenvolva (Pierik, 1990). Considerando-se as diferentes exigências de cada espécie, estão sendo testados nesse trabalho, os meios MS (Murashige & Skoog, 1962), e o meio Knudson “C” modificado (Arditti & Ernst, 1993).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a germinação *in vitro* de *Cattleya labiata*, cultivada em diferentes meios nutritivos, a fim de determinar o meio mais adequado para o desenvolvimento da espécie.

### **METODOLOGIA**

No Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da UFRPE, uma cápsula de *Cattleya labiata* proveniente do assentamento Mochila no município de Garanhuns – PE foi lavada com detergente comercial neutro e água corrente. Em câmara de fluxo laminar, a cápsula ficou imersa durante 1 minuto em álcool 70% e 30 minutos em solução de hipoclorito de cálcio 3% contendo 3 gotas de tween 20%, posteriormente foram realizadas três lavagens com água destilada esterilizada, com o intuito de retirar o excesso de agentes desinfestantes. Após a assepsia, a cápsula foi aberta, sendo as sementes retiradas com auxílio de pinça e bisturi e colocadas em placa de Petri de 8 cm de diâmetro, contendo uma pastilha de formol (formaldeído 99,9%), onde receberam desinfestação gasosa durante 60 minutos. Em seguida foram pesadas e inoculadas em frascos de vidro de 250 mL, contendo 40 mL de meio nutritivo, recebendo os seguintes tratamentos: T0 – Meio MS com metade da força iônica (½ MS); T1 – Meio MS; T2 – Meio ½ Knudson; T3 – Meio Knudson. Antes da desinfestação gasosa, algumas sementes foram separadas para realização do teste com cloreto de tetrazólio, para verificação da viabilidade das sementes. Nele as sementes foram embebidas durante 24 horas em água e colocadas em cloreto de tetrazólio 1% durante 24

horas em temperatura ambiente. O pH do meio foi ajustado a 5,8 antes da adição de 6,5 g.L<sup>-1</sup> de agar e da autoclavagem a 121° C, por 20 minutos. Os explantes permaneceram em sala de crescimento com temperatura de 25± 2°C, sob fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 50µmol. m<sup>-2</sup>. s<sup>-1</sup>.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, utilizado-se quatro tratamentos com dez repetições. A unidade experimental constou de 8 mg de sementes de orquídea por frasco.

Os parâmetros avaliados foram: porcentagem de germinação, porcentagem de contaminação e formação de plântulas.

Os resultados obtidos da porcentagem de germinação foram normatizados pela transformação  $\arcsen \sqrt{\frac{x}{100}}$  e submetidos à análise de variância, sendo as médias

comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

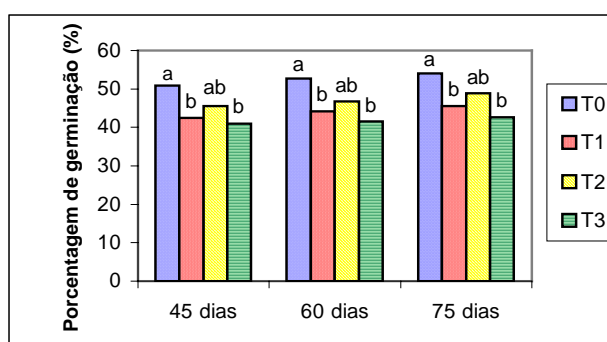
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos 15 dias notou-se que todas as repetições de todos os tratamentos apresentavam uma discreta coloração esverdeada, demonstrando intumescimento do embrião, isto é, o embrião iniciava o seu primeiro estágio de desenvolvimento.

Aos 30 dias observou-se em todos os tratamentos a formação de esférulas e algumas sementes também já formavam corpos de protocormos, o que demonstra a saída do embrião da testa.

Durante 75 dias de cultivo o meio MS com metade da força iônica (½ MS) estimulou a germinação das sementes de *Cattleya labiata*, apresentando este uma maior taxa de germinação, quando comparado aos outros meios. Isso pôde ser observado durante o período de avaliação da porcentagem de germinação que decorreu aos 45, 60 e 75 dias de cultivo (Figura 1).

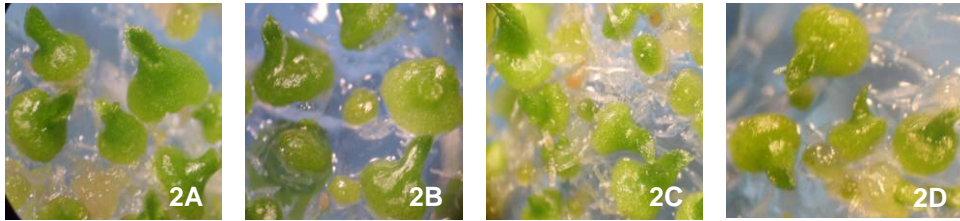
Martini (1999) relatou que sementes de *Gongora quinquenervis* Ruiz & Pavón com até 15 dias de cultivo em meio Knudson apresentaram desenvolvimento similar àquelas cultivadas em meio MS (Murashige & Skoog, 1962), porém deste período em diante, seguiu-se um rápido declínio da cultura em meio Knudson, caracterizado pela total necrose dos embriões aos 22 dias de cultivo.



Nota: Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

**Figura 1** – Porcentagem de germinação de sementes de *Cattleya labiata*, durante 75 dias nos seguintes tratamentos: T0 – Meio ½ MS; T1 – Meio MS; T2 – Meio ½ Knudson; T3 – Meio Knudson.

Devido à boa germinação que o meio ½ MS proporcionou as sementes de *Cattleya labiata*, observou-se que estas apresentaram protocormos mais desenvolvidos que os cultivados nos outros meios (Figura 2). Segundo Grattapaglia & Machado (1998), o meio MS (Murashige & Skoog, 1962), juntamente com suas modificações e diluições têm apresentado bons resultados para diversas espécies.



**Figura 2** – Protocormos de *Cattleya labiata* aos 60 dias de cultivo: (2A) Meio  $\frac{1}{2}$  MS; (2B) Meio MS; (2C) Meio  $\frac{1}{2}$  Knudson; (2D) Meio Knudson. Aumento 45x.

Foi observado aos 90 dias de cultivo o início da conversão dos protocormos em plântulas, apresentando parte aérea e formação das primeiras raízes no meio  $\frac{1}{2}$  MS. Aos 105 dias notou-se que os protocormos cultivados em meio MS apresentavam-se intumescidos já no meio  $\frac{1}{2}$  MS, estes apresentavam parte aérea e suas primeiras raízes (Figura 3). Provavelmente isso ocorreu devido à menor concentração de nutrientes do meio  $\frac{1}{2}$  MS o qual favoreceu, ou induziu o desenvolvimento das raízes, que por sua vez aumentam a superfície de absorção de nutrientes do meio de cultivo.



**Figura 3** – Plântulas de *Cattleya labiata* aos 105 dias de cultivo: (3A) Meio  $\frac{1}{2}$  MS (Aumento 10x); (3B) Meio MS (Aumento 15x); (3C) Meio  $\frac{1}{2}$  Knudson (Aumento 10x); (3D) Meio Knudson (Aumento 15x).

As sementes de *Cattleya labiata* cultivadas em meio  $\frac{1}{2}$  Knudson e Knudson apresentaram formação de protocormos após 30 dias de cultivo *in vitro*, porém estes se mostraram menores que os desenvolvidos no meio  $\frac{1}{2}$  MS. De acordo com Faria & Stancato (1998), sementes de orquídea cultivadas em meio Knudson apresentam formação de protocormos e desenvolvimento de plantas após um período de dois a três meses de cultivo.

A taxa de contaminação foi de 7,5%, essa taxa relativamente baixa se deve ao fato de que as sementes foram provenientes de uma cápsula fechada, e, portanto encontravam-se em local geralmente estéril, segundo Pierik (1990).

Quanto ao teste com cloreto de tetrazólio, este mostrou que aproximadamente 30 % das sementes eram inviáveis, apesar de serem novas e estarem bem condicionadas dentro da cápsula.

## CONCLUSÃO

O meio MS com metade da força iônica ( $\frac{1}{2}$  MS) mostrou-se superior ao meio Knudson durante a germinação das sementes de *Cattleya labiata*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARDITTI, J.; ERNST, R. **Micropropagation of orchids**. New York: John Wiley e Sons, 1993. 682p.

FARIA, R. T. de; STANCATO, G. C.; Orquídea – sementeira. In: TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1998. 72p. (Boletim técnico, 174).

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPq, 1998. v. 1, p. 183-260.

KNUDSON, L. Nonsymbiotic germination of orchid seeds. **Bot. Gaz**, v. 73, n.1, p. 01-25, 1922.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil**. Nova Odessa: Plantarum. 2001. v. 3. 1088p.

MARTINI, P. C. **Germinação e organogênese indireta em sementes maduras de *Gongora quinquenervis* Ruiz e Pavón – ORCHIDACEAE, sob a influência de distintas concentrações de 6-Benzilaminopurina (BAP) e diferentes meios nutritivos**. 1999. 60f. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

PIERIK, R. L. M. **Cultivo *in vitro* de las plantas superiores**. Madrid: Mundi-prensa, 1990, p. 149-167.

STANCATO, G. C.; BEMELMANS, P. F.; VEGRO, C. L. R. Produção de mudas de orquídeas a partir de sementes *in vitro* e sua viabilidade econômica: estudo de caso. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 7 n. 1, p. 25-33, 2001.

WATANABE, D. **Orquídeas: manual de cultivo**: 506 fotos de espécies. 2. ed. São Paulo: AOSP, 2002. 296p.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Cattleya labiata*; Orchidaceae; Knudson; cultivo *in vitro*.

#### AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela Bolsa de Iniciação Científica.