



**11ª Jornada Científica e  
Tecnológica do IFSULDEMINAS  
& 8º Simpósio de  
Pós-Graduação**

**CLOROFILA DE *Cattleya loddigesii* in vitro SOB DIFERENTES VEDAÇÕES DE FRASCO  
E CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE.**

**Paloma C. da SILVA<sup>1</sup>; Verônica G. de OLIVEIRA<sup>1</sup>; Wellington M. BARBOSA<sup>1</sup>; Maria G.  
TEIXEIRA<sup>1</sup>**

**RESUMO**

Objetivou-se avaliar teores de clorofila A, B e Total em mudas de *Cattleya loddigesii* cultivadas *in vitro* sob diferentes concentrações de sacarose (0, 5, 10, 15 e 20 g.L<sup>-1</sup>), em tubos com tampas que permitem ou não trocas gasosas (tampão de algodão ou plástico, respectivamente). Após 60 dias na sala de crescimento, folhas foram coletadas, pesadas e inseridas em tubos falcon com acetona 80% por 48 horas. Índices de clorofilas foram determinados em espectrofotômetro de absorbância nas faixas 645 e 665 nm. O experimento foi realizado em fatorial 5x2, com cinco repetições em blocos casualizados. Meios sem sacarose e com 20 g.L<sup>-1</sup> promoveram menores teores de clorofila A e total em orquídeas cultivadas em tubos com tampas de plásticos. A concentração de 15 g.L<sup>-1</sup> de sacarose proporcionou teores satisfatórios de clorofila A, B e total em *C. loddigesii* independente do sistema de vedação usado. Concluiu-se que a concentração de 20 g.L<sup>-1</sup> de sacarose em meio MS pode comprometer o aparato fotossintético da *C. loddigesii* e, conseqüentemente, diminuir a produção de clorofila A e total, quando a orquídea é cultivada em frascos que não permitem trocas gasosas.

**Palavras-chave:** Micropropagação; Orquídea; Trocas gasosas; Meio nutritivo; Fonte de energia.

**1. INTRODUÇÃO**

Devido a características específicas, a orquídea *Cattleya loddigesii* é amplamente utilizada na produção de híbridos (CARDOSO et al., 2005). Todavia, a *C. loddigesii* vêm sendo altamente explorada em seu habitat natural, destacando-se entre as espécies ameaçadas de extinção (BAPTISTA e LONGHI-WAGNER, 1998).

O cultivo *in vitro* é uma excelente forma de cultivar plantas em grandes escalas. Durante micropropagação tradicional, o material permanece em tubos fechados sem trocas gasosas, onde a sacarose é a maior fonte de energia metabólica (ARIGITA et al., 2002)

Segundo Kozai et al. (1992) e Pospíšilová et al. (1992) plantas micropropagadas neste processo são usualmente heterotróficas, podendo apresentar teores de clorofila insuficientes para realização da fotossíntese.

Estudos recentes buscam ajustes adequados de sacarose para o cultivo *in vitro*, juntamente

[1]Instituto Federal do Sul de Minas Gerais – *Campus* Machado. E-mail: palomaagroagro@gmail.com.

com o emprego de sistemas que permitem trocas gasosas no interior dos recipientes, melhorando os teores de clorofila e conseqüentemente a fotossíntese, no que se baseia o objetivo deste trabalho.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas plântulas de *Cattleya loddigesii* germinadas *in vitro* no Laboratório de Biotecnologia do IFSULDEMINAS-Campus Machado. Os explantes foram inoculados em tubos de 30 mL, com 10 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE et al., 1962).

Para o experimento foram testados dois tipos de vedação de tubo (tampa de polietileno convencional e tampão de algodão permitindo trocas gasosas) e cinco concentrações de sacarose (0; 5; 10, 15 e 20 g L<sup>-1</sup>). Os tubos receberam iluminação artificial em sala de crescimento, sob duas lâmpadas fluorescentes de 40 W, permanecendo na temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 16 horas de luz, sendo subcultivados com as mesmas condições após 30 dias.

Aos 60 dias de incubação, foram coletadas folhas de cinco indivíduos por tratamento (uma amostra por repetição). As folhas foram pesadas e colocadas em tubos falcon contendo acetona 80% onde permaneceram por 48 horas.

Através das leituras realizadas em espectrofotômetro Bel Photonics SP1105, nos comprimentos de ondas ( $\lambda$ ) de 645 e 665 nm, determinou-se as concentrações de clorofilas a, b e totais, por meio de fórmulas propostas por Arnon (1949), expressos em unidades de microgramas por miligrama de massa fresca ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de MF) (RICHARDSON et al. 2002). Realizaram-se análises de variância a 5%, aplicando o teste de Scott Knot.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ao se utilizar tampas de plástico, ocorreram menores teores de clorofila A em *C. loddigesii* cultivada em meio sem sacarose como também com a maior concentração testada, 20 g.L<sup>-1</sup> (TABELA 1). Quando o meio MS continha 20 g.L<sup>-1</sup>, orquídeas que estavam em tubos com tampão de algodão apresentaram maiores teores de clorofila A (TABELA 1).

Possivelmente, estas plantas não utilizaram a sacarose contida no meio de cultura como fonte de carbono e sim o CO<sub>2</sub> fornecido pelas trocas gasosas através da tampa. Como descrito em literatura, a adição de grande quantidade de sacarose em meios de cultura inibe a síntese de clorofila, diminuindo a capacidade fotossintética da planta *in vitro*, tornando o sistema autotrófico menos desenvolvido (DESJARDINS, HDIDER e RIEK, 1995; KOZAI e NGUYEN, 2003; GEORGE, HALL e De KLERK, 2008).

A clorofila B foi menor apenas nas plantas cultivadas em meio com 5 g.L<sup>-1</sup> em tubos com tampa de algodão (TABELA 1). De acordo com Scalon et al. (2002), a clorofila B recebe energia de comprimentos de onda diferentes e transporta esta energia para a clorofila A que é a responsável pelas reações fotoquímicas da fotossíntese.

**Tabela 1:** Teores de Clorofila A, B e total em *Cattleya loddigesii* cultivada *in vitro*, sob diferentes concentrações de sacarose e trocas gasosas.

Clorofila ( $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ MF *)	Tipo de tampas	Concentração de Sacarose (g.L <sup>-1</sup> )				
		0	5	10	15	20
Clorofila a	Plástico	220,13 aB	312,07 aA	272,19 aA	301,94 aA	206,23 bB
	Algodão	276,14 aA	209,29 bB	280,35 aA	337,77 aA	317,92 aA
Clorofila b	Plástico	220,13 aA	312,07 aA	272,19 aA	301,94 aA	206,23 aA
	Algodão	276,14 aA	209,29 bA	280,35 aA	337,77 aA	317,92 aA
Clorofila Total	Plástico	322,33 bB	477,13 aA	434,73 aA	418,66 aA	324,16 aB
	Algodão	424,22 aA	355,68 bA	412,18 aA	466,93 aA	406,35 aA

\* MF: massa fresca.

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na linha ou maiúscula na coluna não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste de Scott Knot.

Quanto à clorofila total, em meio sem sacarose, foram encontrados maiores teores em orquídeas que permaneceram em tubos com tampão de algodão. Orquídeas cultivadas em tubos totalmente vedados, com tampa de plástico, apresentaram menores quantidades de clorofila quando não havia sacarose em meio de cultura ou quando continha 20 g.L<sup>-1</sup> (TABELA 1).

## 5. CONCLUSÕES

A concentração de 20 g.L<sup>-1</sup> de sacarose em meio MS no cultivo pode ser excessiva e comprometer a produção de clorofila A e total em *Cattleya loddigesii*. A concentração de 15 g.L<sup>-1</sup> de sacarose promove produção satisfatória de clorofila A, B e total independente do sistema de vedação de frasco usado.

*C. loddigesii*, cultivada em tubos com tampas que permitem trocas gasosas, provavelmente utiliza o CO<sub>2</sub> atmosférico e assim não tem sua capacidade fotossintética diminuída quando o meio de cultura contém 20 g.L<sup>-1</sup> de sacarose.

## 6. AGRADECIMENTOS

IFSULDEMINAS- Campus Machado.

## 7. REFERÊNCIAS

ARIGITA, L.; GONZÁLEZ, A.; TAMÉS, R. S. Influence of CO<sub>2</sub> and sucrose on photosynthesis and transpiration of *Actinidia deliciosa* explants cultured in vitro. **Physiologia Plantarum**, v. 115, n. 1, p. 166-173, 2002

BAPTISTA, L.R.M.; LONGHI-WAGNER, H.M. (Coord.). Lista preliminar de espécies ameaçadas da flora do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. **Sociedade de Botânica do Brasil**, 1998. 72p

CARDOSO, J.C.; ISRAEL, M. Levantamento de espécies da família Orchidaceae em Águas de Sta. Bárbara (SP) e seu cultivo. **Horticultura Brasileira**, v.23, n.2, p.169-173, 2005.

DALTON, C.C.; STREET, H.E. The influence of applied carbohydrates on the growth and greening of cultured spinach (*Spinacea oleracea* L.) cells. **Plant Science Letters**, Amsterdam, v.10, p.157-164, 1977.

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; De KLERK, J. **Plant Propagation by Tissue Culture**. 3<sup>a</sup> ed. Dordrecht: Springer. 2008. 501p.

GRO, B. et al. The influence of sucrose and an elevated CO<sub>2</sub> concentration of photosynthesis of photoautotrophic peanut (*Arachis hypogea* L.) cell cultures. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Hague, v.33, p.143-150, 1993.

KOZAI, T. Photo autotrophic micropropagation-Environmental control for promoting photosynthesis. **Propagation of Ornamental Plants**, v. 10, n. 4, p. 188-204, 1992.

MURASHIGE T., SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum, Copenhagen**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

POSPÍŠILOVÁ, J.; SOLAROVÁ, J.; ČATSKÝ, J. Photosynthetic responses to stress during in vitro cultivation. **Photosyntetica**, v. 26, p. 3-18, 1992.

RICHARDSON, A.D.; Duigan, S.P.; Berlyn, G.P. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. **New Phytologist, Lancaster**, v.153, n.1, p.185-194, 2002.

SOLÍS, C. et al. The biogenesis of chloroplasts in tissue cultures of a C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plant. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v.30, p.609- 616, 1989.