

---

## CRESCIMENTO *in vitro* DE PLÂNTULAS DE ORQUÍDEAS SUBMETIDAS A DIFERENTES PROFUNDIDADES DE INOCULAÇÃO E CONSISTÊNCIA DO MEIO DE CULTURA

Jéssica A. BATISTA<sup>1</sup>; Priscila P. BOTREL<sup>2</sup>; Felipe C. FIGUEIREDO<sup>3</sup>; Mara QUINTILIANO<sup>4</sup>; Renata A. MOREIRA<sup>5</sup>; Juliano F. RANGEL<sup>6</sup>

### RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar o crescimento de plântulas de *Epidendrum* sp. submetidas a diferentes tratamentos: (T1- Inoculação superficial em meio MS; T2- Inoculação profunda em meio MS; T3- Inoculação superficial e posterior agitação manual para quebra do meio MS; T4- Agitação manual para quebra do meio MS e posterior inoculação superficial), com 4 repetições e 5 plântulas por parcela. Maior biomassa fresca foi encontrada nos tratamentos 2 (0,0275 g), 4 (0,0250 g) e 1 (0,0225), os quais não diferenciaram estatisticamente entre si. Não houve diferença significativa para as variáveis altura, número médio de folhas, número médio de brotos e biomassa seca (g).

### INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae é uma das maiores famílias de Angiospermas em número de espécies, incluindo cerca de 850 gêneros e 20.000 espécies (SOUZA; LORENZI, 2005).

<sup>1</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho. Muzambinho/MG - E-mail: [jessikbio@hotmail.com](mailto:jessikbio@hotmail.com)

<sup>2</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho. Muzambinho/MG - E-mail: [botrelpp@gmail.com](mailto:botrelpp@gmail.com)

<sup>3</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho. Muzambinho/MG - E-mail: [felipe.professor@yahoo.com.br](mailto:felipe.professor@yahoo.com.br)

<sup>4</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho. Muzambinho/MG - E-mail: [maragnt@gmail.com](mailto:maragnt@gmail.com)

<sup>5</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho. Muzambinho/MG - E-mail: [renata\\_amato@hotmail.com](mailto:renata_amato@hotmail.com)

<sup>6</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho. Muzambinho/MG - E-mail: [juliano.rangel@muz.ifsulde Minas.edu.br](mailto:juliano.rangel@muz.ifsulde Minas.edu.br)

O cultivo *in vitro* é uma ferramenta biotecnológica importante na obtenção de plantas livres de doenças e pragas, além de propiciar a produção de um número significativo de novas mudas uniformes (FIGUEIREDO et al., 2007).

O meio de cultura utilizado no cultivo *in vitro* também é muito importante, pois atua sobre o ritmo de crescimento e a proliferação das brotações (MANTELL et al., 1994).

A alteração do estado físico do meio de cultura modifica a resistência física e de contato dos explantes com o meio, podendo influenciar no desenvolvimento de plântulas *in vitro* (CHEN; ZIV, 2001). O estado físico do meio de cultura, portanto, pode estar relacionado ao desempenho assimilatório das plantas durante o período de cultivo do material vegetal (ZIV, 1995). Sendo assim, o estabelecimento de protocolos de micropropagação requer a aplicação de vários ensaios, a fim de estabelecer o melhor meio de cultura para determinada espécie, já que, de acordo com as características genéticas, cada uma pode apresentar respostas diferentes sob as mesmas condições de cultivo (ZIV, 1995; FORTES; PEREIRA, 2001).

Assim, o presente trabalho objetivou avaliar o crescimento de plântulas de *Epidendrum ellipticum* submetidas a diferentes profundidades de inoculação e consistência física do meio de cultura.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Setor de Biotecnologia: Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, localizado no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas, Câmpus Muzambinho, MG.

A cápsula de *Epidendrum* sp. foi obtida em casa de vegetação do Setor de Jardinagem do Câmpus Muzambinho. Foi realizada assepsia com 60% de hipoclorito de sódio por quinze minutos, e em seguida as sementes foram lavadas quatro vezes com água destilada e autoclavada em capela de fluxo laminar. Posteriormente as sementes foram inoculadas em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962).

As sementes permaneceram em BOD sob fotoperíodo de 16h/8h e temperatura de 25°C por um período de 60 dias, e posteriormente foi realizado o presente experimento.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado constituído de quatro tratamentos: (T1- Inoculação superficial em meio MS; T2- Inoculação profunda em meio MS; T3- Inoculação superficial e posterior agitação

manual para quebra do meio MS; T4- Agitação manual para quebra do meio MS e posterior inoculação superficial), com quatro repetições e cinco plântulas por parcela.

Foi utilizado o meio de cultura MS básico solidificado com 8 g / L de ágar (MURASHIGE; SKOOG, 1962), alterando somente a consistência do meio de cultura por meio de agitação manual. O pH foi ajustado para 5,8. Utilizaram-se frascos de 500 mL contendo 40 mL de meio de cultura, os quais foram submetidos ao processo de autoclavagem a 121°C e 1,5 atm, por 20 min. Após o resfriamento, o meio foi levado à câmara de fluxo laminar desinfectada com álcool 70% (etanol), onde foi feita a inoculação das plântulas.

As plântulas de orquídea permaneceram em BOD sob fotoperíodo de 16h/8h e temperatura de 25°C, e após 60 dias foi realizada a análise das variáveis resposta: altura (cm), número de folhas, biomassa fresca (g) e biomassa seca (g) das plântulas de orquídea.

Para as comparações de médias, foi utilizado o teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa Sisvar (FERREIRA, 2011).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Houve diferença significativa para a variável biomassa fresca das plântulas de orquídea. Maior biomassa fresca foi encontrada nos tratamentos 2 (0,0275 g), seguido do tratamento 4 (0,0250 g) e tratamento 1 (0,0225 g). A inoculação superficial com posterior quebra manual do meio de cultura (tratamento 3) proporcionou menor biomassa fresca das plântulas de orquídea (0,0175 g), em relação aos demais tratamentos (Figura 1).

Para as demais variáveis não houve diferença significativa para inoculação de explantes de orquídeas em diferentes profundidades de inoculação e consistência física do meio de cultura (Tabela 1).

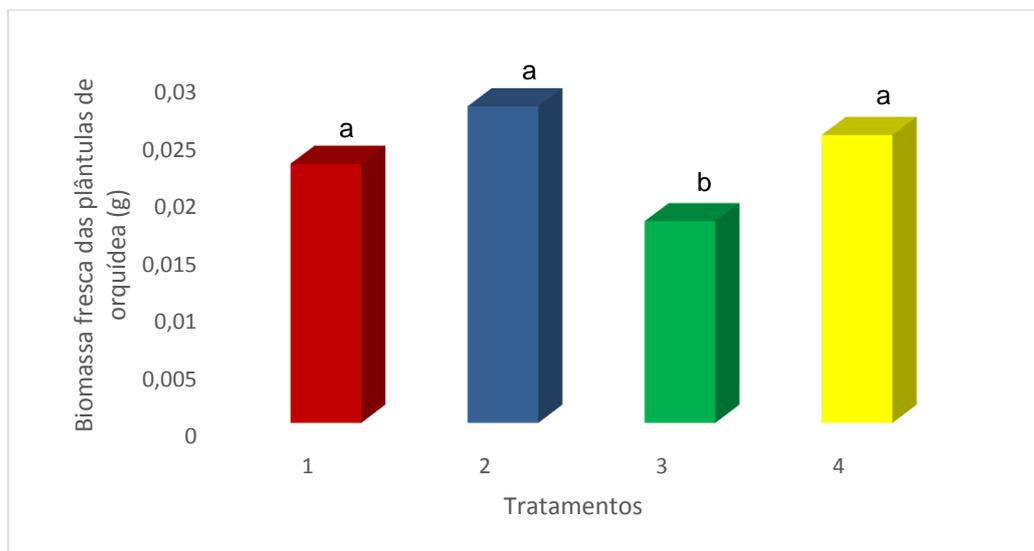


Figura 1. Biomassa fresca de plântulas de orquídea submetidas a diferentes consistências de meio de cultura e profundidade de inoculação.

Provavelmente no tratamento 3, onde ocorreu inoculação superficial dos explantes e posterior agitação manual para quebra do meio MS, os explantes permaneceram submersos no meio de cultivo e a aeração foi deficiente, favorecendo o acúmulo de gases prejudiciais ao desenvolvimento das plantas (LEMOS et al., 2001).

Tabela 1. Altura máxima, número médio de folhas, número médio de brotos e biomassa seca de plântulas de orquídea submetidas a diferentes profundidades de inoculação e consistência de meio de cultura.

Tratamentos	Variáveis resposta			
	Altura (cm)	Nº folhas	Nº Brotos	Biomassa Seca (g)
1	1,92 a	3,15 a	0,60 a	0,007 a*
2	1,86 a	3,75 a	0,40 a	0,005 a
3	1,61 a	3,40 a	0,30 a	0,007 a
4	1,99 a	3,70 a	0,30 a	0,007 a

\*As médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Segundo Lemos (1996), a composição do meio de cultura, o seu contato com os tecidos e a sua oxigenação são alguns dos fatores que parecem influenciar na capacidade micropropagativa dos explantes. Debergh (1982) observou que, quanto maior a área de contato da planta com o meio, maior a absorção dos seus compostos e, em consequência, maior também a taxa de crescimento dos explantes.

## CONCLUSÃO

Maior biomassa fresca foi encontrada nos tratamentos 2 (0,0275 g), tratamento 4 (0,0250 g) e tratamento 1 (0,0225 g). A inoculação superficial com posterior quebra manual do meio de cultura (tratamento 3) proporcionou menor biomassa fresca das plântulas de orquídea (0,0175 g), em relação aos demais tratamentos. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para a altura máxima (cm), número médio de folhas, número médio de brotos e biomassa seca (g).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHEN, J.; ZIV, M. The effect of ancymidol on hyperhydricity, regeneration, starch and antioxidant enzymatic activities in liquid culture Narcissus. **Plant Cell Reports**, v. 20, n. 1, p. 22-27, 2001.

DEBERGH, P.C. Physical properties of culture media. In: **Plant Tissue Culture**. Japan. Tokyo, p. 135-136, 1982.

FIGUEIREDO, M.A.de; SANTOS, F.M. dos; COSTA E SILVA, J.O.; COSTA, F.H.S.; PASQUAL, M. Variações no Meio de Cultura sobre o Crescimento *in vitro* em Híbridos de Orquídea. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, p.294-296, 2007.

FORTES, G. R. L.; PEREIRA, J. E. S. Estabelecimento in vitro da ameixeira cv. América. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 1, p. 183-185, 2001.

LE MOS, E.E.P. **Experimentos em micropropagação e organogênese na graviola** (*A. muricata* L.). Maceió: EDUFAL, 1996. 43p.

LE MOS, E. E. P.; FERREIRA, M. S.; ALENCAR, L. M.C.; OLIVEIRA, J. G. L.; MAGALHÃES, V. S. Micropropagação de clones de banana cv. Terra em biorreator de imersão temporária. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 23, 482-487. 2001.

MANTELL, S. H.; MATTHEWS, J. A.; MCKEE, R. A. Princípios de biotecnologia em plantas: uma introdução à engenharia genética em plantas. Ribeirão Preto: **Sociedade Brasileira de Genética**, 1994. 344 p.

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

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira. Nova Odessa: **Instituto Plantarum**, 2005. 640p.

ZIV, M. The control of bioreactor environment for plant propagation in liquid culture. **Acta Horticulture**, v. 393, n. 1, p. 25-38. 1995.