

Crescimento *in vitro* de *Oncidium baueri* (Orchidaceae) em diferentes concentrações de sacarose e macronutrientes

Sorace, Mauren¹; Schnitzer, Jenniffer Aparecida¹; Faria, Ricardo Tadeu de²; Damasceno, Clério Valentin Jr.³; Gomes, Gisely Paula³; Barbosa, Cristiane Muniz⁴; Vieira, Fabíola Giovanna Nesello⁵; Silva, Geraldo Lopes da⁶; Takahashi, Lúcia Sadayo Assari⁷;

Bióloga, Esp., Mestranda da UEL, e-mail: mauren.uel@bol.com.br e je_uel@yahoo.com.br.

¹Eng^o Agr., Dr., Professor Associado do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina (UEL – PR) – Bolsa produtividade CNPq, Cx. Postal 6001, 86051-960, tel: (43) 3371-4770, e-mail: faria@uel.br, Londrina, PR.; ² Acadêmicos de Agronomia da UEL ³; Acadêmica de Biologia da UEL ⁴; Bióloga ⁵; Técnico do Laboratório de Fitotecnia do Departamento de Agronomia da UEL⁶; Eng^a Agr^a, Dra. Professora Adjunta do Departamento de Agronomia da UEL⁷.

INTRODUÇÃO

A propagação *in vitro* tem sido utilizada como um meio rápido de propagação vegetativa na horticultura ornamental e junto com outras técnicas biotecnologias, permite a obtenção de um grande número de plantas com autenticidade varietal e em qualquer época do ano.

A composição do meio de cultura é importante para a germinação da semente e o crescimento da planta, sendo geralmente constituído de macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, aminoácidos, sacarose e agente gelificante (Melo, 1999).

O meio nutritivo simplificado formulado com adubo Peters (3 g.L⁻¹), sacarose (20 g.L⁻¹), banana (60 g.L⁻¹) e ágar (4 g.L⁻¹) mostrou-se eficiente para o crescimento e enraizamento de plantas de *Dendrobium nobile* (Orchidaceae) (Song *et al.*, 1999).

Conforme, Faria e Stancato (1996), em trabalho desenvolvido com diferentes composições de meio de cultura, obtiveram resultados satisfatórios no cultivo *in vitro* de *Laelia cinnabarina* (Orchidaceae) em meio MS com metade da concentração dos macronutrientes.

De acordo com Bressan *et al.* (1999 a) observaram um melhor desenvolvimento de *Phalaenopsis* (Orchidaceae) *in vitro*, no meio com 1/3 da concentração de sais do MS e na presença de carvão ativado (2 g.L⁻¹), 20 g.L⁻¹ de açúcar e 5 g.L⁻¹ de ágar, sem vitaminas e fitorreguladores.

A sacarose é um componente importante no meio de cultura servindo como fonte de carbono e energia (Faria *et al.*, 2004). A presença de açúcar no meio de cultura propicia a contaminação por fungos e bactérias, sendo as plântulas cultivadas *in vitro* são consideradas autotróficas (KOZAI, 1991).

Conforme Calvete *et al.* (2002), ao estudarem na propagação *in vitro* do morango o efeito das concentrações de sacarose (15, 30, 45 e 60 g.L⁻¹) em meio MS, demonstraram que as plantas em condições *in vitro* necessitam de fontes exógenas de açúcar e que, para a cultivar Vila Nova, as doses entre 30 e 45 g.L⁻¹ foram as que propiciam melhores resultados.

De acordo com Riquelme *et al.* (1991), avaliaram o efeito de várias concentrações de sacarose na etapa de pré-acondicionamento *in vitro* de plantas de morangueiro, batata, menta e videira, e verificaram que doses de 30 à 45 g.L⁻¹ foram as mais adequadas durante o pré-acondicionamento *in vitro* e posterior sobrevivência durante a fase de aclimatização.

Experimentos com *Diuris longifolia* (Orchidaceae), mostraram que o enraizamento de mudas é promovido pelo aumento da concentração de sacarose para 40 g.L⁻¹, pela adição de 0,05 % de carvão ativado no meio de cultura (Collins & Dixon, 1992).

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar os efeitos da concentração de sacarose e dos macronutrientes no crescimento *in vitro* de *Oncidium baueri*.

METODOLOGIA

As flores de *Oncidium baueri* foram polinizadas artificialmente e as cápsulas fechadas contendo as sementes foram coletadas após 6 meses. As cápsulas fechadas foram desinfetadas com hipoclorito de sódio 2,5% por 20 minutos e as sementes de *Oncidium baueri* foram germinadas em meio Murashige & Skoog, 1962, e ao atingirem $1 \pm 0,5$ cm de comprimento, foram transferidos para frascos contendo 250 ml de meio de cultura e subcultivadas nos diferentes tratamentos.

Os tratamentos consistiram de diferentes concentrações de sacarose (30 g.L^{-1} , 40 g.L^{-1} e 60 g.L^{-1}), e combinadas com dois tipos de formulações de macronutrientes (N, P, K, S, Ca, Mg e Fe) no meio de cultura (MS completo e MS com metade dos macronutrientes), acrescido de 1 g.L^{-1} de carvão ativado e pH ajustado para 6,0, autoclavado a $120 \text{ }^\circ\text{C}$ e 1 atm, por 20 minutos. Posteriormente à inoculação, os frascos foram transferidos para sala de crescimento com temperatura de $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com seis tratamentos e oito repetições, contendo 20 plântulas por parcela.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5%. Para a análise estatística, os dados foram transformados em raiz quadrada para os variáveis números de brotos e número de raízes.

Os parâmetros avaliados após seis meses do início do experimento foram: altura parte aérea, comprimento da maior raiz, número de raízes, número de brotos, massa seca e massa fresca total.

Em seguida as mudas foram retiradas dos frascos, lavadas em água corrente para retirada de todo o meio de cultura e transplantadas em bandejas de isopor, utilizando o esfagno como substrato e colocadas na casa de vegetação, com 30% de luminosidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de altura da parte aérea, comprimento da maior raiz, número de raízes, número de brotos, massa seca e massa fresca total são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Médias referentes à altura da parte aérea, comprimento da raiz, número de raízes, número de brotos, massa seca e massa fresca total de plântulas de *Oncidium baueri*, após seis meses do início do experimento.

Tratamentos	Altura parte aérea (cm)	Comprimento da maior raiz (cm)	Número de raízes (*)	Número de brotos (*)	Massa seca (mg)	Massa fresca total (mg)
MS Completo + sacarose						
T1 - 30 g.L^{-1}	3,01 b	0,10 b	6,06 b	0,15 a	0,13 a	0,14 b
T2 - 40 g.L^{-1}	3,38 b	0,11 b	7,31 ab	0,16 a	0,16 a	0,16 b
T3 - 60 g.L^{-1}	2,94 b	0,10 b	8,58 ab	0,16 a	0,11 a	0,18 b
MS $\frac{1}{2}$ Macro + sacarose						
T4 - 30 g.L^{-1}	3,05 b	0,13 b	6,32 b	0,15 a	0,10 a	0,16 b
T5 - 40 g.L^{-1}	4,96 a	0,20 a	10,37 a	0,17 a	0,09 a	0,33 a
T6 - 60 g.L^{-1}	3,15 b	0,11 b	8,78 ab	0,13 a	0,09 a	0,19 b
CV%	16,05	21,27	28,95	32,70	33,93	25,95

* Dados sob transformação raiz quadrada.

**Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

Os dados relativos à altura da parte aérea, comprimento de raiz, massa seca e massa fresca total indicam que os melhores resultados ocorreram com a utilização do meio de cultura contendo MS ½ macro, com adição de 40 g.L⁻¹ de sacarose (Tabela1). No entanto, Fráguas et al. (2003), obtiveram crescimento satisfatório de plântulas resultantes do cruzamento entre *Cattleya labiata* e *Laelia itambana*, em meio de cultura contendo 20 g.L⁻¹ de sacarose.

Em relação ao número de raízes o tratamento 5 apresentou maior número 10,37, os demais tratamentos não diferiram estatisticamente. De acordo com George e Sherrington (1984), citados por Oliveira (1994), segundo os quais, concentrações elevadas de açúcar podem inibir a formação de raízes “in vitro”. Entretanto, efeitos satisfatórios ocorreram com Leite et al. (2000) em experimento com porta-enxerto de pereira, quando utilizaram sacarose no meio.

Del Rosário e De Guzman (1981) obtiveram um efeito positivo promovido pela alta concentração de açúcar no crescimento de raízes de embriões de coqueiro “makapuno”, usando meio MS. De acordo com Guimarães et al. (1999), o maior número de raízes foi obtido com 7,5 g.L⁻¹ de sacarose e na ausência de nitrogênio, e o menor número delas foi encontrado em 60 g.L⁻¹ de sacarose e ausência de nitrogênio. Calvete et al. (2002), verificaram que plantas de morangueiro cultivar Campinas produzida na concentração de 45 g.L⁻¹ de sacarose, apresentaram enraizamento e na ausência não houve desenvolvimento de raízes.

Em relação ao número de brotos, as maiores médias foram alcançadas no tratamento 5, no entanto, estatisticamente todos os tratamentos foram semelhantes. Guimarães et al. (1999), trabalhando com samambaia-espada e Loescher e Albrecht (1979), citados por Amaki e Higuchi (1992), com produção de brotos de pontas de estolhos da espécie *Nephrolepis exaltata* (L.) Schoot verificaram os melhores resultados com níveis mais diluídos do meio MS, em relação ao padrão.

CONCLUSÃO

A concentração de sacarose (40 g.L⁻¹) e metade da concentração dos macronutrientes do MS, foi a mais eficiente no desenvolvimento vegetativo in vitro de *Oncidium baueri*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMAKI, W.; HIGUCHI, H. Micropropagation of Boston Ferns. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Gainesville, v.20, n.104, p.485-494, 1992.

BRESSAN, E.A; LEE, L.L.; SEVERO, V.S. & GERALD, L.T.S. Desenvolvimento de Orquídeas *Phalaenopsis in vitro* – efeito do carvão. 12^o- Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais. Jaboticabal, S.P., Brasil, p.111. 1999 a.

CALVETE, E.O.; AZEVEDO, M.; BORDIGNON, M.H.; SUZIN, M. Análises anatômicas e da biomassa em plantas de morangueiro cultivadas in vitro e ex vitro. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.20, n.4, p. 649-653, 2002.

COLLINS, M.T.; DIXON, K.W. Micropropagation of an Australian terrestrial orchid *Diuris longifolia* R Br. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, v.32, p. 131-135, 1992.

DEL ROZARIO, A.G.; DE GUZMAN, E.V. The growth of Makapuno coconut embryos in vitro as affected by mineral composition and sugar level of the medium during the liquid and solid culture. *Philippine Journal of Science*, v.105, p. 215-222, 1981a.

FARIA, R.T.; RODRIGUES, F.N.; OLIVEIRA, L.V.R.; MÜLLER, C. In vitro *Dendrobium nobile* plant growth and rooting in different sucrose concentrations. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.22, n.4, p. 780-783, 2004.

FRÁGUAS, C.B.; VILLA, F.; SOUZA, A.V.; PASQUAL, M.; DUTRA, L.F. Crescimento *in vitro* de plântulas de orquídeas oriundas da hibridação entre *Cattleya labiata* e *Laelia itambana*. Lavras: *Ceres*, 50 (292): 719-726, 2003.

GUIMARÃES, P.T.C., PASQUAL, M.; MIRANDA, A.M.P. Efeito de diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose sobre a propagação "in vitro" de samambaia-espada [*Nephrolepis exaltata* (L.) Schott]. *Ciência e Agrotec.*, Lavras, v. 23, n.2, p. 309-316, 1999.

KOZAI, T. Photoautotrophic micropropagation. *In Vitro*, v. 27, p. 47-51, 1991.

LEITE, G.B.; FINARDI, N.; FORTES, G.R.L. Efeitos de concentrações de sacarose no meio de cultura e da intensidade luminosa no enraizamento "in vitro" do porta-enxerto de pereira OHXF97. *Ciência Agrotec.*, v. 24, n. 2, p. 353-357, 2000.

MELO, A.V. Micropropagação "in vitro" de *Oncidium hians* Lindl (*Orchidaceae*) em diferentes formulações de meio de cultura. Monografia Bacharelado (TCC), ao curso de Ciência Biológicas. Londrina, 1999.

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

OLIVEIRA, P.D. de. Propagação "in vitro" de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzlev.) cv. Orange Reagen. Lavras: *Esalq*; 1994. 116p.

RIQUELME, C.; GUIÑAZU, M.E.; TIZIO, R. Pré-acondicionamento y aclimataccion em condiciones de invernáculo de plântulas micropagadas de frutilla, menta, papa y vid. *Phyton*, v. 52, n. 1, p. 73-82, 1991.

SONG, M.K.R.; SILVA, G.L.; FARIA, R.T. & TAKAHASHI, L.S.A. Análise do crescimento e enraizamento in vitro de híbridos de *Dendrobium nobile* Lindl. (*Orchidaceae*) semeados em diferentes meios de cultura. 12^o- Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais. *Jaboticabal*, SP, Brasil, p.110, 1999.

STANCATO, G.C.; FARIA, R.T. In vitro growth and mineral nutrition of the lithophytic orchid *Laelia cinnabarina* Batem. (*Orchidaceae*) In: Effects of macro and microelements. *Lindleyana* 11 (1): 41-43. 1996.

PALAVRAS-CHAVES

Orquídea, cultura de tecido, carboidrato, *orchidaceae*.