

423 - MEIOS DE CULTURA ALTERNATIVOS PARA O CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE ORQUÍDEAS *IN VITRO*

Rafael Ücker Brahm¹; João Carlos Costa Gomes²; Veridiana Krolow Bosenbecker³

RESUMO

As técnicas de micropropagação e semeadura *in vitro* de orquídeas, até pouco tempo, eram restritas aos sofisticados laboratórios de biotecnologia, devido ao seu alto custo. Hoje, podem ser realizadas com equipamentos simples e de baixo custo, inclusive em laboratórios caseiros, utilizando materiais alternativos. As orquídeas despertam verdadeiro fascínio nas pessoas pela sua beleza, fato que as tornam um produto cobiçado e caro, fazendo com que sofram a ação predatória do homem, causando grande impacto na biodiversidade. Neste trabalho, objetivou-se avaliar o crescimento e desenvolvimento de plântulas de orquídea, do gênero *Schomburgkia sp.*, germinadas *in vitro*, em diferentes meios de cultura alternativos. Os meios utilizados foram: **M1**=60g.L⁻¹ de banana; **M2**=60g.L⁻¹ de mamão; **M3**=60g.L⁻¹ de tomate; **M4**=60g.L⁻¹ de batata; **M5**=30g.L⁻¹ de banana + 30g.L⁻¹ de mamão; **M6**=30g.L⁻¹ de banana + 30g.L⁻¹ de tomate; **M7**=30g.L⁻¹ de banana + 30g.L⁻¹ batata; **M8**=20g.L⁻¹ de banana + 20g.L⁻¹ de mamão + 20g.L⁻¹ de tomate; **M9**=30g.L⁻¹ de mamão + 30g.L⁻¹ de tomate; **M10**=20g.L⁻¹ de mamão + 20g.L⁻¹ de tomate + 20g.L⁻¹ de batata; **M11**=30g.L⁻¹ de mamão + 30g.L⁻¹ de batata; **M12**=30g.L⁻¹ de batata + 30g.L⁻¹ de tomate; **M13**=15g.L⁻¹ de batata + 15g.L⁻¹ de tomate + 15g.L⁻¹ de mamão + 15g.L⁻¹ de banana. Em todos os meios, foi adicionado 40 mL.L⁻¹ de água coco, 20g.L⁻¹ de açúcar cristal, 2g.L⁻¹ de carvão ativado e 10g.L⁻¹ de ágar. Ajustou-se o pH para 5,0. Os meios M3 e M1, contendo tomate e banana, respectivamente, apresentaram plântulas de maior altura, com maior número de folhas e raízes e com maior comprimento de raízes. Além destes meios terem proporcionado melhor desenvolvimento das plântulas, sua composição é bastante simples e de baixo custo, o que pode viabilizar a produção de mudas em escala comercial.

Palavras-chave: Orchidaceae, *Schomburgkia*, meios de cultura alternativos, biotecnologia alternativa, biodiversidade

INTRODUÇÃO

A clonagem de plantas é uma realidade em laboratórios de biotecnologia desde que George Morel, em 1960, divulgou suas experiências em orquídeas. Hoje, é uma técnica muito utilizada na multiplicação de plantas livres de doenças e com características de resistência a pragas e patógenos. Os componentes químicos e orgânicos, empregados nos meios de cultura, geram as maiores controvérsias entre os pesquisadores. Ainda não se têm protocolos adequados e/ou simplificados para cada gênero ou espécie que se deseja multiplicar. Muitos trabalhos podem ser realizados para que se possa ter protocolos de germinação e multiplicação de orquídeas, pois poucas pesquisas são publicadas no país e os melhores trabalhos são enviados para o exterior (Campos, 2002).

¹ UCPEL – Graduando do Curso de Bacharelado em Ecologia (rafaelubrahm@bol.com.br).

² Embrapa Clima Temperado – Pesquisador (costa@cpact.embrapa.br).

³ UFPEL – Doutoranda do Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal (vkrolowb@ufpel.tche.br).

As técnicas de micropropagação e semeadura *in vitro* de orquídeas eram, até pouco tempo, restritas aos sofisticados laboratórios de biotecnologia, o que elevava seu custo. Hoje, estas técnicas podem ser realizadas, com equipamentos simples e de baixo custo, em laboratórios caseiros, utilizando materiais alternativos facilmente disponíveis. Um dos fatores que contribui diretamente para o custo destas técnicas é a composição dos meios de cultura, cujos componentes podem ser substituídos, em muitos casos, por frutas, legumes e açúcar de uso doméstico (Campos, 2002).

As orquídeas compreendem uma das famílias mais numerosas do mundo das plantas, sendo conhecidas até o momento 35 mil espécies, divididas em 853 gêneros naturais e 1000 gêneros híbridos. O número de híbridos, catalogados pela Royal Horticultural Society, em Londres, é de aproximadamente 100 mil exemplares. No Brasil, são encontradas 70% das espécies conhecidas (Rittershausen, 1998; Plantas & Flores, 1977).

Considerando a beleza rara destas plantas, as orquídeas tornaram-se um produto de muita procura e de alto valor comercial, contribuindo para a espoliação da biodiversidade, pois, assim como seus hospedeiros naturais, as orquídeas têm sido alvo de coletas ilegais. Este tipo de ação, aliado a um estilo de ocupação territorial que não tem levado em conta uma relação mais respeitosa do homem com a natureza, tem colocado em risco muitas orquídeas nativas (Englert, 2000). Segundo a listagem da Sociedade Brasileira de Botânica do Brasil, somente no Rio Grande do Sul, encontram-se 21 espécies ameaçadas de extinção, 8 espécies são consideradas vulneráveis e 9 espécies são raras (Baptista & Longhi-Wagner, 1998, citados por Medeiros *et al.*, 2000).

Com a finalidade de tornar as técnicas de multiplicação *in vitro* de orquídeas auto-sustentáveis e, assim, torná-las acessíveis e viáveis para um maior número de pessoas, o presente trabalho, teve como objetivo avaliar o crescimento e desenvolvimento de plântulas de orquídea, do gênero *Schomburgkia*, na presença de diferentes meios de cultura alternativos, elaborados com frutas e legumes.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecido da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. As plântulas do gênero *Schomburgkia*, germinadas *in vitro*, com aproximadamente 3mm de altura e com duas folhas, foram colocadas em frascos contendo 30mL dos seguintes meios de cultura: **M1**=60g.L⁻¹ de banana; **M2**=60g.L⁻¹ de mamão; **M3**=60g.L⁻¹ de tomate; **M4**=60g.L⁻¹ de batata; **M5**=30g.L⁻¹ de banana + 30g.L⁻¹ de mamão; **M6**=30g.L⁻¹ de banana + 30g.L⁻¹ de tomate; **M7**=30g.L⁻¹ de banana + 30g.L⁻¹

batata; **M8**=20g.L⁻¹ de banana + 20g.L⁻¹ de mamão + 20g.L⁻¹ de tomate; **M9**=30g.L⁻¹ de mamão + 30g.L⁻¹ de tomate; **M10**=20g.L⁻¹ de mamão + 20g.L⁻¹ de tomate + 20g.L⁻¹ de batata; **M11**=30g.L⁻¹ de mamão + 30g.L⁻¹ de batata; **M12**=30g.L⁻¹ de batata + 30g.L⁻¹ de tomate; **M13**=15g.L⁻¹ de batata + 15g.L⁻¹ de tomate + 15g.L⁻¹ de mamão + 15g.L⁻¹ de banana. Em todos os meios, foi adicionado 40 mL.L⁻¹ de água coco, 20g.L⁻¹ de açúcar cristal, 2g.L⁻¹ de carvão ativado e 10g.L⁻¹ de ágar. Em todos os meios, o pH foi ajustado para 5,0. Os frascos foram incubados a 25 ± 2°C com fotoperíodo de 16h luz, por 90 dias. Foram avaliadas as seguintes variáveis repostas: altura das plântulas, número de folhas, número e comprimento de raízes.

A unidade experimental constituiu-se de um frasco com seis plântulas. O experimento foi delineado em blocos casualizados, com quatro repetições por tratamento. Os dados, assim obtidos, foram analisados pelo teste de Scott & Knott (1974).

RESULTADOS

Os resultados do crescimento e desenvolvimento das plântulas de *Schomburgkia sp.*, nas diferentes combinações entre as frutas e legumes utilizados, podem ser observados na Tabela 1. A maior altura de plântulas foi obtida nos meios M3 e M1, os quais apresentavam, respectivamente, tomate e banana em sua composição. Os maiores números de folhas e de raízes foram formados nos meios com ausência de batata, correspondendo aos meios M3, M1, M2, M9 e M8. Os maiores comprimentos de raízes ocorreram na presença dos meios M3, M1, M2, M8, M9, M10 e M4.

CONCLUSÕES

O meio de tomate foi o que proporcionou melhor crescimento e desenvolvimento *in vitro* da *Schomburgkia sp.*, seguido pelo meio de banana. A batata não deve ser utilizada quando se objetiva obter um número elevado de folhas e raízes. Para o tamanho das raízes, as combinações entre as frutas e legumes não são determinantes. Não é necessário combinar as frutas e legumes num mesmo meio, pois os melhores resultados foram obtidos quando utilizados sozinhos.

O crescimento e desenvolvimento de orquídeas, em meios de cultura alternativos, é uma técnica viável, pois aliam a simplicidade de utilização à disponibilidade dos produtos e ao baixo custo final. Muitos produtos naturais, ainda, devem ser avaliados em meios de cultura alternativos para otimizar a germinação, crescimento e desenvolvimento de orquídeas *in vitro*.

Tabela 1 - Altura, número de folhas, número de raízes e comprimento de raízes de plântulas de *Schomburgkia sp.* em relação aos diferentes meios de cultivo.

TRATAMENTOS	Altura da plântula (cm)	Número de folhas	Número de raízes	Comprimento das raízes (cm)
M3	6,25 A	2,77 A	2,60 A	6,50 A
M1	5,39 A	2,30 A	2,31 A	5,79 A
M2	4,45 B	2,25 A	2,29 A	5,06 A
M10	3,83 B	1,78 B	1,80 B	3,30 A
M9	3,77 B	2,17 A	2,14 A	3,80 A
M8	3,56 B	2,10 A	2,11 A	4,36 A
M4	2,25 C	1,54 B	1,63 B	3,26 A
M7	1,84 C	1,54 B	1,45 B	1,82 B
M13	1,35 C	1,39 B	1,47 B	1,92 B
M12	1,18 C	1,40 B	1,24 B	1,49 B
M6	1,01 C	1,26 B	1,41 B	1,25 B
M5	0,82 C	1,14 B	1,15 B	0,77 B
M11	0,82 C	1,14 B	1,00 B	0,79 B

Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Scott & Knott ($\alpha = 0,05$).

LITERATURA CITADA

Baptista, L. R. & Longhi-Wagner, H. M. **Lista preliminar de espécies ameaçadas da flora do Rio Grande do Sul**. 1998. 16p.

Campos, D. M. **Orquídeas: Micropropagação e quimioterapia de meristemas**. Ed. Expressão e Cultura, Rio de Janeiro, 2002, 112p.

Englert, S. I. **Orquídeas & Bromélias: Manual Prático de Cultivo**. Ed. Agropecuária, Guaíba, 2000. 96p.

Medeiros, J.; Ramos, R. L. D. & Prade, C. **Estudo e propagação *in vitro* de bromélias e orquídeas nativas**. FEPAGRO, Porto Alegre. 2000.

Plantas e Flores. **Orquídeas**. Abril Cultural, São Paulo, v.1, p. 145-156, 1977.

Rittershausen, W. **O maravilhoso mundo das orquídeas**. Rio de Janeiro, 1998. 127p.

Scott, A. J.; Knott, M. A. A cluster analysis method of grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**. v. 30, p. 507-512, 1974.⁴