



ISSN: 2230-9926

Available online at <http://www.journalijdr.com>

IJDR

International Journal of Development Research

Vol. 10, Issue, 08, pp. 39661-39664, August, 2020

<https://doi.org/10.37118/ijdr.19819.08.2020>



RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS

CRESCIMENTO DE *CATTLEYANOBILIOR* RCHB. F EM DIFERENTES SISTEMAS DE MICROPROPAGAÇÃO

Gabriel Machado Dalla Martha, Rodrigo Kelson Silva Rezende, *Mailson Vieira Jesus, Geisianny Pereira Nunes, José Carlos Sorgato, Bruno Harthcopf Esposito, Jeremias Gomes Damaceno Muniz

Department of Agrarian Sciences, Federal University of Grande Dourados

ARTICLE INFO

Article History:

Received 17th May 2020

Received in revised form

29th June 2020

Accepted 11th July 2020

Published online 30th August 2020

Key Words:

orquídea, Cultura de Tecidos, biorreator.

*Corresponding author:

Alanna Sanlai Sousa Lima

ABSTRACT

Cattleyanobiliar Rchb. F. é uma espécie de orquídea que ocorre no Brasil, endêmica do Cerrado, utilizada para fins ornamentais, alimentícios e farmacológicos. A micropropagação permite a produção de mudas em larga escala com rapidez, padronização e qualidade fitossanitária. Quando realizada por biorreator de imersão temporária, a melhor nutrição e oxigenação das mudas possibilitam qualidade dos propágulos e sobrevivência durante a aclimatização. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi estabelecer um protocolo de micropropagação de *C. nobilior* em meio de cultura MS padrão, comparando sistemas, convencional (frascos com MS + ágar) e em biorreator de imersão temporária (imersão de 15 minutos a cada 2 horas). Em ambos protocolos ocorreu o estabelecimento e desenvolvimento das plantas. Plantas cultivadas em biorreator de imersão temporária apresentam maior número de brotações, diâmetro de pseudobulbo, comprimento de folha, massa fresca e massa seca, enquanto que apenas o comprimento de raiz é superior no sistema convencional.

Copyright © 2020, Marcelo Resende Seabra et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Citation: Marcelo Resende Seabra, Francine Kühn Panzarella, Rudyard dos Santos Oliveira, Carlos Estevão Lagustera et al. 2020. "Crescimento de *Cattleyanobiliar* Rchb. F em diferentes sistemas de micropropagação", *International Journal of Development Research*, 10, (08), 39661-39664.

INTRODUCTION

A família Orchidaceae apresenta cerca de 35.000 espécies, sendo considerada uma das maiores famílias do Reino Vegetal e a mais evoluída (SUTTLEWORTH *et al.*, 1994). No Brasil, existem aproximadamente 200 gêneros e 2.500 espécies (LORENZI e SOUZA, 1996). *Cattleyanobiliar* Rchb. F. é uma espécie de orquídea que ocorre no Brasil, exclusivamente no bioma Cerrado, distribuindo-se nos estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Pará, Rondônia, Tocantins, Maranhão e Distrito Federal (BARROS *et al.*, 2013). Trata-se de uma espécie epífita de 10-20 cm de altura que floresce nos meses de agosto a setembro, apresenta inflorescências que produzem geralmente de uma a três flores róseo-lilases, grandes e muito vistosas. Por todos esses motivos, a espécie é submetida à pressão de coleta voltada para a comercialização (POTT e POTT, 1994; BIANCHETTI, 2007). Além das propriedades ornamentais, com flores de cores, formas e tamanhos variáveis, as orquídeas se destacam na indústria alimentícia para a produção de baunilha, na obtenção de

alcaloides usados na farmacologia e na geração de cosméticos (SEQUEIRA, 2007; FARIA *et al.*, 2012). As orquídeas apresentam relevante importância econômica, e devido a retirada exagerada da natureza para a sua comercialização, algumas espécies estão com risco de extinção (SOARES, *et al.*, 2011; SCHNEIDERS *et al.*, 2012). Entre essas espécies, destaca-se *C. nobilior* (BIANCHETTI, 2007). A micropropagação proporciona uma produção em larga escala da planta de interesse, tornando as mudas acessíveis com mais rapidez para o uso comercial (PASQUAL, 2000). A propagação *in vitro* permite alta qualidade fitossanitária das plantas geradas, em um reduzido espaço de tempo, em quaisquer épocas do ano e com probabilidade de preservação da identidade genética dos indivíduos, com isso, essa técnica vem sendo empregada para diversas espécies vegetais (GUERRA *et al.*, 1999; KOZAY *et al.*, 1997). Os biorreatores são equipamentos utilizados para micropropagação clonal e massal de plantas, cujo objetivo é a imersão temporária ou permanente de cultura de células, tecidos, sementes ou órgãos

vegetais em solução nutritiva líquida, tendo como propósito fundamental, facilitar o trabalho rotineiro e melhorar as condições ambientais e assépticas para as culturas, produzindo-as em larga escala (TEIXEIRA, 2002). O biorreator de imersão temporária (B.I.T.) é um método de micropropagação que utiliza o meio de cultura líquido. Sua eficácia está relacionada com diversos fatores, destacando a melhor nutrição e oxigenação das culturas, aprimoramento da qualidade dos propágulos e sobrevivência durante aclimatização (MURCH *et al.*, 2004). Neste sentido, o cultivo de plantas em biorreatores visa à reprodução de genótipos selecionados, tornando-se alternativa para otimização do processo e redução dos custos de produção. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi estabelecer um protocolo de micropropagação de orquídea (*Cattleyanobilior* Rchb. F.) em sistema convencional e em biorreator de imersão temporária.

MATERIAL E MÉTODOS

As atividades foram desenvolvidas no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, pertencente ao Centro de Biotecnologia e Melhoramento Genético da Cana-de-Açúcar de Mato Grosso do Sul, da Universidade Federal da Grande Dourados. Foram utilizadas plantas matrizes de *Cattleyanobilior* (com 14 meses de idade) oriundas da sementeira *in vitro*.

Sistemas de micropropagação: A repicagem das plantas foi realizada em câmara de fluxo horizontal com o auxílio de pinças e placas de Petri autoclavadas. Após a repicagem, foram feitos 2 tratamentos com 4 repetições cada:

T1 (sistema convencional): frascos de vidro contendo 50 ml de meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), suplementado com 30,0 g L⁻¹ de sacarose e 6,0 g L⁻¹ de ágar, contendo 7 plântulas/frasco. T2 (B.I.T.): frascos de vidro contendo 200 ml de meio MS, suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, contendo 28 plântulas/frasco, com tempo de imersão de 15 minutos a cada 2 horas. Devido a maior quantidade de plântulas, adicionou-se maior quantidade de meio de cultura. O pH do meio foi ajustado em 5,8 ± 0,1 antes da autoclavagem, a qual foi realizada a 120°C por 20 minutos. Após a inoculação das plantas, todos os frascos foram armazenados na sala de cultivo *in vitro*, sob fotoperíodo de 16 horas (43 μmol m⁻² s⁻¹) e temperatura de 25 ± 2°C. Delineamento experimental, avaliações e análise estatística. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, constituído por dois tratamentos, com quatro repetições cada. Após 180 dias de cultivo, foram avaliadas as seguintes variáveis: número de plântulas (NP); número de brotações (NB); número de folhas (NF); número de raízes (NR); massa fresca (MF); massa seca (MS); altura total de plântula (ATP); comprimento de raiz (CR); comprimento de folha (CF) e diâmetro de pseudobulbo (DP). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste t de Bonferroni, ao nível 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000).

RESULTADOS

As variáveis NB, DP, CF, MFT e MST foram significativas para o biorreator de imersão temporária. O CR foi superior no sistema convencional, enquanto NP, NTF, NR e ATP não apresentaram diferenças significativas (Figuras 1 e 2).

Para as variáveis NB, MF e MS, as plântulas cultivadas no biorreator de imersão temporária apresentaram, respectivamente, 10,75 brotos, 1,28 g e 0,11 g, enquanto no sistema convencional, a média de NB foi de 6,50, 0,80 g de MF e 0,07 g de MS (Figuras 1 e 2). O DP foi superior nas plântulas que foram cultivadas no biorreator de imersão temporária, apresentando média de 1,72 mm. Em contrapartida, o sistema convencional teve média de 1,41 mm (Figura 1). No B.I.T., onde ocorre a transferência do meio e a remoção de gases desvantajosos, o CF apresentou média de 14,88 mm, superior ao sistema convencional (9,40 mm) (Figura 1). O CR raiz foi significativo para o sistema convencional, com média de 20,50 mm, superando o valor obtido para o B.I.T. (16,05 mm) (Figura 1).

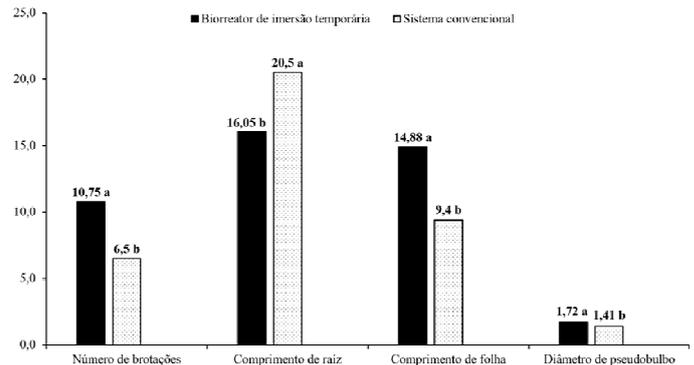


Figura 1. Número de brotações, comprimento de raiz (mm), comprimento de folha (mm) e diâmetro de pseudobulbo (mm), das plântulas de *Cattleyanobilior* cultivadas em biorreator de imersão temporária e sistema convencional.

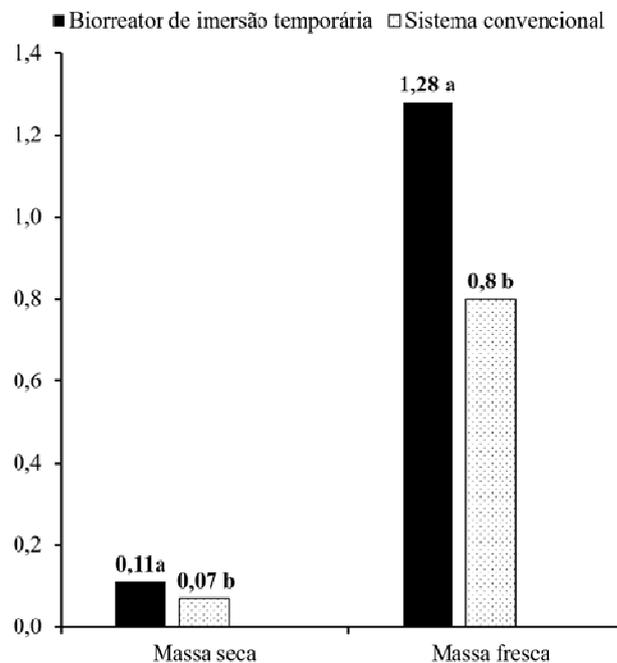


Figura 2. Massa seca e fresca das plântulas de *Cattleyanobilior* cultivadas em biorreator de imersão temporária e sistema convencional.

DISCUSSÃO

As plântulas cultivadas em biorreator de imersão temporária tem maior área de contato com meio de cultura líquido, aumentando a absorção de nutrientes e permitindo a maior produção de brotações e massa, ao contrário do meio de

cultura sólido, onde apenas uma pequena parte da plântula fica em contato com o meio de cultura, diminuindo a absorção dos nutrientes (RODRIGUES *et al.*, 2006). Segundo Etienne e Berthouly (2002), o volume dos recipientes também intervém no desenvolvimento das plântulas, sendo que quanto maior o volume dos frascos, maior a multiplicação das plântulas. O pseudobulbo é o principal órgão armazenador de nutrientes minerais, carboidratos e água de orquídeas epífitas. Além disso, a expansão do pseudobulbo se deve ao acúmulo de carboidratos que eleva a pressão osmótica, fazendo com que o fluxo de água, armazenada principalmente no pseudobulbo, ocorra mais depressa para o interior da célula. Essa diferença significativa a favor do biorreator de imersão temporária deve-se ao fato dos frascos possuírem maior quantidade de meio de cultura líquido (maior quantidade de nutrientes minerais e sacarose) e os pseudobulbos absorverem mais nutrientes devido a maior área de contato com o mesmo (ZIMMERMAN, 1990). A renovação do CO₂ no recipiente favorece um acréscimo no nível de fotossíntese, com a luminosidade adequada. Sendo assim, a reciclagem com frequência do ar durante o período de substituição do meio, acabam excluindo os possíveis gases prejudiciais gerados pelo metabolismo das plantas que comumente se concentram na fase gasosa do sistema (FILHO, 2004).

As raízes das plântulas do sistema convencional foram fixadas no meio de cultura, ou seja, elas ficaram em contato com o meio durante todo o período de duração do experimento, ao contrário do B.I.T. em que o tempo de imersão das plântulas no meio de cultura líquido é de 15 minutos a cada 2 horas. No cultivo de orquídeas, o nitrogênio, fósforo e o potássio, influenciam vários fatores, entre eles o número, tamanho e produção de folhas, raízes, pseudobulbos, flores e entre outros (WANG, 2007). Diversos autores (TAKAYAMA, 2002; ROELS *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2007) relatam que os sistemas de cultivo em biorreatores podem promover todas as fases da micropropagação, bem como adaptabilidade a diversas espécies, uniformização da produção e, conseqüentemente, redução dos custos por muda produzida. Além de permitirem a automatização dos protocolos, os sistemas de cultivo em biorreatores dispensam o uso de agente gelificante, que pode representar cerca de 70% do custo da solução nutritiva,

Conclusão

Foi possível o estabelecimento de protocolo em sistemas convencional e em biorreator de imersão temporária para a micropropagação de orquídea (*Cattleyanobilior* Rchb. F.) Plantas de *C.nobilior* cultivadas em biorreator de imersão temporária apresentam maior número de brotações, diâmetro de pseudobulbo, comprimento de folha, massa fresca e massa seca, enquanto que apenas o comprimento de raiz é superior no sistema convencional.

REFERÊNCIAS

- Barros, F. D; Vinhos, F., Rodrigues, V. T., Barberena, F. F. V. A., Fraga, C. N., Pessoa, E. M., FORSTER, W., MENINI Neto, L. Orchidaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB20010>> Acesso em: 29 jun. 2019.
- Bianchetti, L. B. *Cattleya nobilior*. Heringeriana, Brasília, v.1, n.1, p. 9-10, 2007.
- Etienne, H., Berthouly, M. Temporary immersion systems in plant micropropagation. *Plant, Cell Tissue and Organ Culture*, v. 69, p. 215–231, 2002.
- Faria, R. T., Assis, A. M., Unemoto, L. K., Carvalho, J. F. R. P. Produção de orquídeas em laboratório. Londrina: Mecenas, 2012. 124p.
- Ferreira, D. F. Sisvar (Sistema para análise de variância). Lavras: Universidade Federal de Lavras (Departamento de Ciências Exatas DEX), 2000.
- Filho, A. R. Biorreatores de imersão temporária e unidades encapsuláveis como ferramentas na consolidação de protocolos de micropropagação de bromélias. 2004. 87 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.
- Guerra, M. P., Dal Vesco, L. L., Pescador, R., Schuelter, A. R., Nodari, R. O. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 34, p. 1557-1563, 1999.
- Kozay, T., Kubota, C., Jeong, B. R. Environmental control for the large scale production of plants through in vitro techniques. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 51, p. 49-56, 1997.
- Lorenzi, H., Souza, H. M. de. Plantas Ornamentais no Brasil. Nova Odessa: Editora Plantarum. 1996. v.1. 650p.
- Murashige, T., Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, v.15, p.473-97, 1962.
- Murch, S.J., Liu, C., Romero, R.M., Saxena, P.K. *In vitro* culture and temporary immersion bioreactor production of *Crescentia cujete*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v.78, p.63–68, 2004.
- Pasqual, M. Propagação de plantas ornamentais. Lavras: UFLA/FAEPE. p. 80, 2000.
- Pott, A., Pott, V. J. Plantas do Pantanal. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. 320p.
- Rodrigues, P. H. V., Teixeira, F. M., Lima, A. M. L. P., Ambrosano, G. M. B. Propagation of heliconia plantlets in temporarily immersion bioreactor. *Bragantia*, v. 65, p. 29-35, 2006.
- Roels, S., Noceda, C., Escalona, M., Sandoval, J., Canal, M. J., Rodriguez, R., DEBERGH, P. The effect of headspace renewal in a temporary immersion bioreactor on plantain (*Musa AAB*) shoot proliferation and quality. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. v.84, p. 155-163, 2006.
- Schneiders, D., Pescador, R., Booz, M. R., Suzuki, R.M. Germinação, crescimento e desenvolvimento *in vitro* de orquídeas (*Cattleya* spp., Orchidaceae). *Ceres*, Viçosa, v. 59, n. 2, 2012.
- Sequeira, L. G. C. Avaliação de diferentes substratos e da inoculação de fungos rizoctonióides no crescimento inicial de *Hadrolaelia perrinii*. 2007. 53f. Dissertação (Mestrado) – Instituto Agrônomo, Campinas-SP.
- Silva, A. B., Pasqual, M., Teixeira, J. B., Araújo, A. G. Micropropagation methods of pineapple. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. v. 42, p. 1257-1262, 2007.
- Soares, J. D. R., Pasqual, M., Rodrigues, F. A., Villa F., Araújo, A. G. Fontes de silício na micropropagação de orquídea do grupo *Cattleya*. *Acta Scientiarum Agronomy*, Maringá, v. 33, n. 3, p. 503-507, 2011.
- Suttleworth, F. S., ZIM, H. S., Dillon G. W. Orquídeas: Guia dos orquidófilos. 5 ed. Rio de Janeiro: Expressão e cultura, 1994. 158p.
- Takayama, S. Practical aspects of bioreactor application in mass propagation of plants. *Abst. 1st Int. Symp. Liquid*

- Systems for *In Vitro* Mass Propagation of Plants, Norway. p. 60- 62, 2002.
- Teixeira, J. B. Biorreatores. Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento, v. 24, p. 36-41, 2002.
- Wang, Y.T. Potassium nutrition affects *Phalaenopsis* growth and flowering. HortScience, v. 42, p.1563-1567, 2007.
- Zimmerman, J. K. Role of pseudobulbs in growth and flowering of *Catasetum viridiflavum* (Orchidaceae). American Journal of Botany, Columbus, v. 77, n. 4, p. 533-542, 1990.
