



## MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE *Cattleya eldorado* (ORCHIDACEAE)

### *IN VITRO* MULTIPLICATION OF *Cattleya eldorado* (ORCHIDACEAE)

Sara Thiele Moreira Sobral<sup>1</sup>; Maria da Conceição Da Rocha Araújo<sup>2</sup>; Maria Isabel Garcia Ribeiro<sup>3</sup>; Francisco Joaci de Freitas Luz<sup>4</sup>; Jane Maria Franco de Oliveira<sup>5</sup>; Edvan Alves Chagas<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal de Roraima. Centro de ciências agrárias. Rodovia BR-174. Km 12. Bairro Monte cristo. CEP: 69310-270. Brasil. sara.eagro@hotmail.com (apresentador do trabalho).

<sup>2</sup> Universidade Federal de Roraima. Bolsista PNPd-CAPEs. Centro de ciências agrárias. Rodovia BR-174. Km 12. Bairro Monte cristo. CEP: 69310-270. Brasil. nilmacoly@hotmail.com.

<sup>3</sup>Universidade Federal de Roraima. Centro de ciências agrárias. Rodovia BR-174. Km 12. Bairro Monte cristo. CEP: 69310-270. Brasil. bel\_s.g@hotmail.com.

<sup>4</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Rodovia 174, Km 8, Distrito Industrial, s/n, Boa Vista - Roraima, CEP 69301970. Brasil. francisco.luz@embrapa.br.

<sup>5</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Rodovia 174, Km 8, Distrito Industrial, s/n, Boa Vista - Roraima, CEP 69301970. Brasil. jane.franco@embrapa.br.

<sup>6</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). Bolsista Produtividade CNPq, Rodovia 174, Km 8, Distrito Industrial, s/n, Boa Vista - Roraima, CEP 69301970. Brasil. edvan.chagas@embrapa.br.

## INTRODUÇÃO

A *Cattleya eldorado* é uma espécie monofoliada pertencente à família Orchidaceae Epidendroideae, tribo Epidendreae e subtribo Laeliinae (DRESSLER, 1981). Ela ocorre em uma área relativamente pequena da Amazônia, na Venezuela e no Brasil nos Estados do Amazonas e Pará, sendo que no estado do Amazonas, ela está restrita à parte central, no entorno de Manaus, até à divisa do estado do Amazonas com Roraima (STORTI et al., 2011). As espécies de *Cattleya* apresentam grande importância econômica por serem comercializadas para ornamentação devida suas flores vistosas com variedade de cores e tonalidades diversas (CARNEIRO; GONÇALVES; FLORES, 2017).

Cada cápsula ou fruto de orquídeas pode conter de 376 a 3,7 milhões de sementes, dependendo da espécie (WITHNER, 1959). Porém, as sementes não possuem endosperma funcional, ou seja, não possuem reservas, e sua germinação em geral depende de associações micorrízicas. Essa simbiose mostra-se bastante complexa, e pode não acontecer em razão das condições ambientais adversas (SANTOS et al., 2007; FRÁGUAS et al., 2003).

Nesse contexto, a micropropagação apresenta-se como alternativa para a propagação eficiente de espécies de orquídea, uma vez que propicia o aproveitamento de praticamente todas as sementes produzidas nas cápsulas e a regeneração de plantas adultas a partir destas. No cultivo *in vitro*, os meios de cultura utilizados oferecem as condições necessárias ao crescimento e desenvolvimento das plantas (BUTCHER; INGRAN, 1976; DIXON, 1985).

Neste trabalho, objetivou-se estabelecer um sistema eficiente de produção de mudas *in vitro* de *Cattleya eldorado*, avaliando os efeitos dos reguladores de crescimento BAP (6-benzilaminopurina) e ANA (Ácido Naftalenacético), no desenvolvimento de plântulas da espécie.



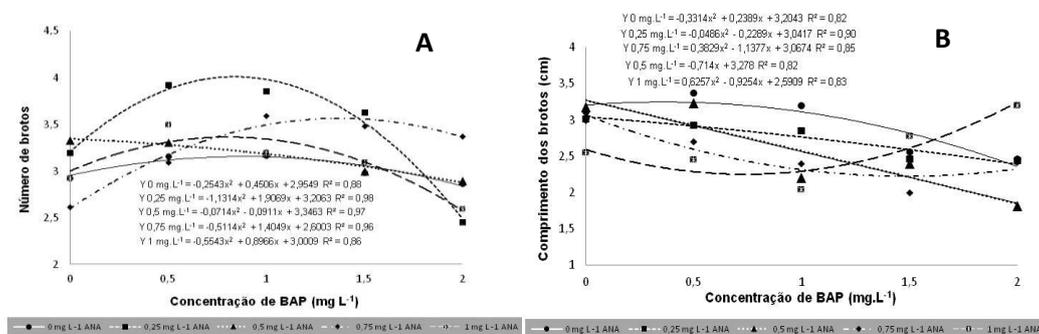
## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa-RR, em Boa Vista-RR. Foram utilizados como fonte de explante, plântulas com aproximadamente 1,0 cm de altura e apenas uma folha, oriundas de sementes, germinadas *in vitro*. Os explantes foram inoculados em frascos contendo 30 mL de meio MS, em diferentes tratamentos, os quais foram constituídos de diferentes concentrações de BAP (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg L<sup>-1</sup>) combinados com diferentes concentrações de ANA (0; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0 mg L<sup>-1</sup>). Após inoculação, os frascos foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25± 2°C e fotoperíodo de 16 horas.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial duplo, constituído por 5 concentrações de BAP x 5 concentrações de ANA. Cada tratamento foi constituído de cinco repetições, contendo 6 explantes cada, totalizando 30 explantes por tratamento. Após 120 dias, avaliou-se o número de brotos, o comprimento do maior broto, número de raiz, e o comprimento da maior raiz. Os dados foram analisados através de regressão polinomial, com auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância, houve diferenças significativas entre as concentrações testadas, para as variáveis analisadas. A figura 1 mostra o número de brotos (A) e o comprimento dos brotos (B) em função do efeito das concentrações de BAP combinados com ANA. Para número de brotos, houve maior formação de brotos quando combinado 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 0,25 mg L<sup>-1</sup> de ANA, obtendo-se média de 4 brotos por tratamento, sendo que a partir dessa concentração houve uma redução na formação dos brotos. Para as concentrações de 0 e 0,25 mg L<sup>-1</sup> de ANA, houve uma redução na formações de brotos à medida em que se elevou a concentração de BAP, onde as melhores médias foram obtidas na ausência da citocinina. No entanto, para as concentrações de 0,75 e 1 mg L<sup>-1</sup> de ANA, houve um aumento no número de brotos até a concentração de 0,75 mg L<sup>-1</sup> de BAP, sendo que a medida em que se elevou as concentrações de BAP, menores foram as médias observadas.



**FIGURA 1-** Número de brotos (A) e comprimento de brotos (B) em plântulas de *C. eldorado* em função das diferentes concentrações de BAP e ANA.



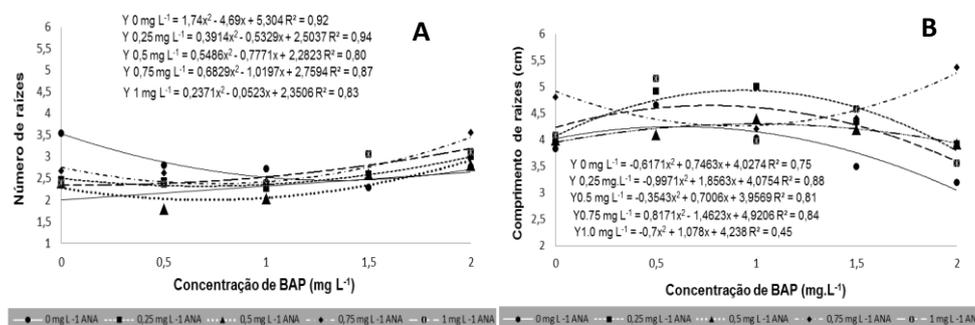
Quando avaliado o comprimento dos brotos (figura 1B), observou-se que os maiores comprimentos foram observados na ausência de ANA e utilizando a concentração de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Para as concentrações de 0,25; 0,5 e 0,75 mg L<sup>-1</sup>, de ANA, observou-se comportamento semelhante, para a interação em auxina e citocinina, a medida em que aumentou a concentração de BAP houve uma redução no comprimento dos brotos. Já para a concentração de 1 mg L<sup>-1</sup> de ANA, houve um aumento no comprimento dos brotos, onde as maiores médias foram obtidas na combinação de 2 mg L<sup>-1</sup> de BAP com 1 mg L<sup>-1</sup> de ANA.

Resultados semelhantes aos obtidos no presente experimento, foram observados por Soares et al. (2010), em estudo com diferentes concentrações de BAP na multiplicação de orquídeas, os autores observaram que à medida em que se elevou as concentrações de BAP, menores foram as médias obtidas para o comprimento de brotos.

Asghar et al. (2011), obtiveram maior número de brotos de *Dendrobium nobile* em meio O753, suplementado com 2 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Os autores, constataram que concentrações superiores induziram a redução do número de brotos nas espécies estudadas. Monfort et al. (2012) salientam que as citocininas, quando utilizadas em cultivo *in vitro*, até determinada concentração, estimulam a brotação, porém, concentrações acima da ótima propiciam efeitos desfavoráveis à indução de brotos.

Para a variável número de raízes (figura 2A), observou-se comportamento semelhantes, para todas as concentrações testadas. Para as concentrações de 0,25 a 1 mg L<sup>-1</sup>, observou-se que à medida em que se elevou a concentração de BAP maiores foram as médias observadas, com exceção do tratamento com ausência de ANA, o qual demonstrou médias superiores da demais, quando combinadas com baixas concentrações de BAP.

Foi observado comportamento contrário ao obtido para a variável comprimento das raízes (figura 2B), onde a medida em que se aumentou a concentração de BAP ao meio de cultura, menores foram os tamanhos das raízes, exceto para o tratamento com ausência de ANA, o qual apresentou maiores médias somente com adição de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, sendo que a partir dessa concentração, houve redução no comprimento das raízes.



**FIGURA 2-** número de raízes (figura 2A) e comprimento das raízes (figura 2B) em plântulas de *C. eldorado*, cultivadas *in vitro*, em função das concentrações combinadas de BAP e ANA.



Souto et al., (2010) avaliando o efeito ANA na indução de sistema radicular em explantes de *Cattleya*, também observaram que a adição da auxina apresentaram comportamento inibitório ao alongamento radicular, quando comparado ao controle. Navroski et al. (2014) salientam que concentrações elevadas de citocinina podem inibir ou atrasar a formação de raízes e, além de prejudicar o seu comprimento, podem anular os efeitos benéficos das auxinas sobre a indução do sistema radicular.

## CONCLUSÕES

Nas condições testadas, melhores resultados foram obtidos quando utilizadas as baixas concentrações de auxinas e citocininas, sendo recomendado nas fases iniciais a utilização de 0,25 de ANA ou ausência da auxina combinado com 0,5 de BAP.

## REFERÊNCIAS

- ASGHAR, S.; AHMAD, T.; HAFIZ, I.A.; YASEEN, M. In vitro propagation of orchid (*Dendrobium nobile*) var. Emma white. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.10, n.16, p.3097-3103, 2011.
- BUTCHER, W.P.; INGRAN, D.S. **Organs and embryos**. In: Plant Tissue Culture.[s.l]: Edward Publishing 1976. p. 3-15.
- CARNEIRO, G. T.; GONÇALVES, L. D. M.; FLORES, A. S. Anatomia foliar de duas espécies de *Cattleya* (Orchidaceae) endêmicas dos Escudos das Guianas. **Biota Amazônia**, Macapá, v. 7, n. 1, p. 26-29, 2017.
- DIXON, R.A. **Isolations an maintenance of callus and cell suspensions cultures**. In: DIXON R.R.(Ed.). Plant Cell Culture: A Pratical Approach. Washington DC: IRL Press, p. 1-20, 1985.
- DRESSLER, R.L. **The orchids, natural history and classification**. Cambridge, Harvard University Press. 332 pp. 1981.
- FERREIRA D.F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- 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*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 50, n. 292, p.719-726, 2003.
- MONFORT, L.E.F.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; ROSSI, Z.T.T.; SANTOS, F.M. Efeito do BAP no cultivo *in vitro* de *Ocimum selloi* Benth. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, n.3, p.458-63, 2012.
- NAVROSKI, M.C.I.; WALDOW, D.A.G.; REINIGER, L.R.S.; GOLLE, D.P.; CURTI, A.R.; PEREIRA, M.O. Multiplicação *in vitro* de segmentos apicais caulinares de segurelha (*Satureja hortensis* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.16, n.1, p. 117-121, 2014.



SANTOS, G. A.; SAITO, B. C.; MONTEIRO, D. P.; GUTIERRE, M. A. M.; ZONETTI, P. C. Utilização de reguladores hormonais na germinação e formação de plântulas *in vitro* de orquídeas. **Cesumar**, Maringá, v. 09, n. 01, p. 07-12, 2007.

SOARES, J. D. R.; PASQUAL, M.; RODRIGUES, P. A.; ARAÚJO, A. G. Estiolamento e luz artificial no cultivo *in vitro* de orquídeas nativa e híbrida. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n.9, p. 1941-1947, 2010.

SOUTO, J. S.; MORIMOTO, J. M.; FERREIRA, W. M.; NAKABASHI, M.; SUZUKI, R. M. Efeito do ácido naftalenoacético no desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya bicolor* Lindl. (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Biociência**, Porto Alegre, v.8, n. 2, p. 179-185. 2010.

STORTI, E.F.; BRAGA, P.I.S.; STORTI-FILHO, A. Biologia reprodutiva de *Cattleya eldorado* uma espécie de Orchidaceae das campinas amazônicas. **Acta Amazônica**, Manaus, v.41, n.3, p.361-368, 2011.

WITHNER, C. L. **Orchid physiology**. In: The orchids: a scientific survey. New York: Ronald Press, p. 155-188. 1959.