

Comunicação

Fertilizantes comerciais e polpa de banana no cultivo *in vitro* de um híbrido de *Phalaenopsis* (Orchidaceae)

Ronan Carlos Colombo¹, Vanessa Favetta¹, Ricardo Tadeu de Faria²

RESUMO

A propagação *in vitro* de orquídeas é bastante utilizada para a produção de mudas. A busca por meios de cultura alternativos para este fim vem sendo amplamente estudada devido à complexidade dos meios comumente utilizados, como o meio MS. Os híbridos de *Phalaenopsis* encontram-se dentre as orquídeas mais comercializadas no mundo devido à longevidade e à beleza peculiar de suas flores. Nesse trabalho, objetivou-se avaliar o efeito de formulações de fertilizantes comerciais e adição de polpa de banana 'Nanica' em meio de cultura no cultivo *in vitro* de um híbrido de *Phalaenopsis* (*P. amabilis* x *P. equestris*). Plântulas germinadas *in vitro*, em meio MS, foram subcultivadas em meios de cultura à base de fertilizantes comerciais e meio MS modificado com metade da concentração dos macronutrientes. Os meios de cultura foram avaliados com e sem a adição de polpa de banana 'Nanica' (100 g L⁻¹) no estágio de maturação quatro. A base dos meios de cultura foi composta por sacarose (30 g L⁻¹), carvão ativado (1 g L⁻¹) e ágar (9 g L⁻¹). Aos 180 dias foram avaliadas as seguintes variáveis: área foliar, número de folhas e raízes, comprimento de raízes e massas de matérias secas de folhas e raízes. Conclui-se que o tratamento composto por Biofert® acrescido de polpa de banana apresentou os melhores resultados para o desenvolvimento *in vitro* do híbrido, inclusive apresentando resultados estatisticamente superiores em relação ao meio MS sem banana.

Palavras-chave: micropropagação, meio simplificado.

ABSTRACT

Commercial fertilizers and banana pulp for *in vitro* cultivation of a *Phalaenopsis* hybrid

The *in vitro* propagation of orchids is a largely used procedure for the production of seedlings. The search for alternative culture media with this purpose has been widely studied due to the complexity of the commonly used media, e.g. the MS medium. The hybrids of *Phalaenopsis* are among the most commercialized orchids in the world due to the longevity and distinct beauty of its flowers. The objective of this study was to evaluate the effect of commercial fertilizers' formulations and the addition of 'Nanica' banana pulp in a culture medium for *in vitro* cultivation of a hybrid of *Phalaenopsis*. Seedlings germinated *in vitro*, in MS medium, were subcultivated in culture media with a basis of commercial fertilizers and MS medium modified with half the concentration of macronutrients. The culture media were evaluated with and without the addition of the banana pulp (100g L⁻¹) during the stage of maturation 4. The basis of these culture media was composed of sucrose (30g L⁻¹), activated charcoal (1g L⁻¹) and agar (9g L⁻¹). After 180 days the following variables were analyzed: leaf area, number of leaves and roots, root length and dry weight of leaves and roots. We were able to conclude that the treatment composed by Biofert® supplemented with banana pulp presented the best results for the hybrid development *in vitro*, and actually presented statistically superior results in relation to MS without banana.

Key words: Orchidaceae, micropropagation, simplified medium

Recebido para publicação em 23/03/2012 e aprovado em 29/08/2012.

¹ Graduandos em Agronomia. Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445, Km 380, Caixa Postal 6001, 86051-980, Londrina, Paraná, Brasil. ronancolombo@yahoo.com.br (autor correspondente); vanfavetta@hotmail.com

² Engenheiro-Agrônomo, Doutor. Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445, Km 380, Caixa Postal 6001, 86051-980, Londrina, Paraná, Brasil. faria@uel.br

INTRODUÇÃO

O gênero *Phalaenopsis* compreende 66 espécies de orquídeas epífitas, monopodiais, com folhas suculentas (Tsai *et al.*, 2003). São plantas originárias dos trópicos e subtropicais do planeta, e na atualidade estão entre as orquídeas mais populares produzidas comercialmente (Lee, 2011). Isso se deve ao fato de seu ciclo de produção ser relativamente curto em estufa, se comparado a outras espécies de orquídeas; à longa durabilidade de suas flores, que pode chegar a até três meses; e à enorme gama de variedades com diferentes colorações, formatos e tamanhos, resultantes do processo de hibridação (Vaz & Kerbauy, 2005; Lee, 2011). Outro aspecto importante dessa orquídea está no fato desse gênero permitir ao produtor programar a sua produção, pois ela responde bem à indução floral, processo que leva ao florescimento a partir de um estímulo provocado, o que não se aplica com sucesso à maioria dos gêneros de orquídeas com interesse econômico (Lee, 2011).

O cultivo *in vitro* de orquídeas é amplamente difundido entre os laboratórios de cultura de tecidos. Uma das principais vantagens dessa técnica é a produção de plantas em quantidade, aliada à qualidade das mudas (Faria *et al.*, 2012). O meio de cultura é essencial para os desenvolvimentos vegetativo e radicular, podendo conter diferentes combinações de nutrientes, de acordo com os requerimentos de cada espécie (Faria *et al.*, 2002). Dentre os meios de cultura mais utilizados para a propagação *in vitro*, destacam-se os meios MS (Murashige & Skoog, 1962), Knudson C (Knudson, 1946) e Vacin e Went (Vacin & Went, 1949).

Os componentes do meio de cultura podem ser substituídos, em muitos casos, por frutas, legumes, açúcar de uso doméstico (Campos, 2002) e fertilizantes comerciais. No entanto, os conhecimentos sobre a melhor formulação do meio de cultura para cada espécie ainda são limitados (Araújo *et al.*, 2006). A polpa de banana vem sendo muito utilizada nos meios de cultura devido às suas grandes concentrações de potássio, fósforo e magnésio, e também em algumas vitaminas como: vitamina A, tiamina, riboflavina, niacina e vitamina C (Arditti & Ernest, 1992). Fertilizantes comerciais também têm sido acrescentados aos meios de cultura como fonte de macro e micronutrientes em substituição aos sais normalmente empregados.

Este trabalho objetivou avaliar fertilizantes comerciais em substituição aos sais do meio MS e adição de polpa de banana sobre o desenvolvimento *in vitro* de plântulas de um híbrido de *Phalaenopsis* (*P. amabilis* x *P. equestris*).

MATERIAL E MÉTODOS

A partir do cruzamento entre *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume e *P. equestris* (Schauer) Rchb. f., obteve-se uma cápsula com sementes viáveis, as quais foram germi-

nadas em *in vitro*, em meio de cultura MS com metade da concentração de macronutrientes. Plântulas com 90 dias de idade e área foliar aproximada de 110 mm², provenientes de sementeira *in vitro* em meio de cultura MS com metade da concentração de macronutrientes, foram subcultivadas em frascos de vidro com capacidade de 350 mL, contendo 50 mL dos seguintes meios: MS modificado, com metade da concentração dos macronutrientes (T1); MS modificado, com metade da concentração dos macronutrientes + banana (T2); Brennfeed 114®, NPK (05-05-06) (T3); Brennfeed 114®, NPK (05-05-06) + banana (T4); Dyna-Gro®, NPK (09-03-06) (T5); Dyna-Gro®, NPK (09-03-06) + banana (T6); Biofert®, NPK (08-09-09) (T7); Biofert®, NPK (08-09-09) + banana (T8); Peters®, NPK (20-20-20) (T9); Peters®, NPK (20-20-20) + banana (T10); Plant Prod®, NPK (20-20-20) (T11); e Plant Prod®, NPK (20-20-20) + banana (T12). Os fertilizantes foram utilizados na concentração de 3 mL L⁻¹ ou 3 g L⁻¹, e a base dos meios de cultura foi composta por açúcar de uso doméstico (30 g L⁻¹), carvão ativado (1 g L⁻¹) e ágar (9 g L⁻¹). Os meios foram avaliados com e sem a adição de polpa de banana-nanica (100 g L⁻¹) no estágio de maturação quatro. O pH dos meios de cultura foi ajustado para 5,8 ± 0,2. Os frascos foram mantidos em sala de cultivo a 26 °C e fotoperíodo de 16 horas.

Após 180 dias, as plântulas foram avaliadas analisando-se as seguintes variáveis: área foliar (mm²), número de folhas e raízes, comprimento médio de raízes (cm) e massas das matérias secas de folhas e raízes (g). Para a obtenção da área foliar utilizou-se o software ImageJ, e para a obtenção da massa da matéria seca, as folhas e raízes foram secas em estufa a 65 °C até atingirem massa constante. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto de 12 tratamentos e seis repetições por tratamento, com sete plantas em cada repetição. Os resultados foram analisados por Análise de Variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os valores médios para as variáveis, número de folhas e raízes foram transformados para $\sqrt{x+1}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta as variáveis analisadas e os respectivos tratamentos. A área foliar das plântulas, no tratamento T2 se destacou em relação aos demais, não diferindo estatisticamente do tratamento T8.

Para número de folhas (Tabela 1), o tratamento T8 apresentou média superior à da maioria dos demais tratamentos, não diferindo apenas à do T1 e do T4. Possivelmente tais resultados tenham sido semelhantes devido aos fertilizantes (Brennfeed 114® e Biofert®) e em razão de o meio MS ser composto pelos mesmos sais na sua grande maioria.

Tabela 1. Médias de área foliar (AF), número de folhas (NF), massa de matéria seca de folhas (MSF), número de raízes (NR), comprimento médio de raízes (CMR) e massa de matéria seca de raízes (MSR) de plântulas de um híbrido de *Phalaenopsis* subcultivadas em diferentes meios de cultura após 180 dias de cultivo

Meios de cultura	AF (mm ²)	NF**	MSF (g)	NR**	CMR (cm)	MSR (g)
T1	305,44 c	2,58 abc	0,02 bcd	5,11 abc	8,33 d	0,03 f
T2	667,76 a	2,45 bc	0,03 a	5,50 ab	18,86 ab	0,08 cde
T3	242,69 c	1,65 d	0,01 cd	4,63 abcd	16,43 abc	0,07 de
T4	266,26 c	2,67 ab	0,01 cd	3,98 cd	16,25 abc	0,11 bcd
T5	300,33 c	2,28 bcd	0,01 cd	4,77 abc	12,34 cd	0,05 ef
T6	224,31 c	2,40 bcd	0,01 d	3,50 d	13,89 bcd	0,08 cde
T7	389,00 bc	2,31 bcd	0,01 cd	5,48 ab	15,69 abc	0,06 ef
T8	525,64 ab	3,26 a	0,03 a	5,76 a	17,19 abc	0,12 ab
T9	384,29 bc	2,33 bcd	0,02 bcd	5,14 abc	12,51 cd	0,05 ef
T10	389,98 bc	2,38 bcd	0,02 ab	5,02 abc	19,89 a	0,15 a
T11	326,55 c	1,88 cd	0,02 bcd	5,24 ab	15,58 abc	0,07 de
T12	281,14 c	2,05 bcd	0,02 bc	4,48 bcd	14,81 abc	0,11 abc
CV %	26,46	16,65	21,22	12,78	20,00	25,09

T1 = MS modificado com metade dos macronutrientes; T2 = MS modificado com metade dos macronutrientes + banana; T3 = Brennfeed 114® NPK (05-05-06); T4 = Brennfeed 114® NPK (05-05-06) + banana; T5 = Dyna-Gro® NPK (09-03-06); T6 = Dyna-Gro® NPK (09-03-06) + banana; T7 = Biofert® NPK (08-09-09); T8 = Biofert® NPK (08-09-09) + banana; T9 = Peters® NPK (20-20-20); T10 = Peters® NPK (20-20-20) + banana; T11 = Plant Prod® NPK (20-20-20); e T12 = Plant Prod® NPK (20-20-20) + banana.

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

** Médias não transformadas.

Em relação à massa de matéria seca das folhas os tratamentos T2 e T8 destacaram-se com médias superiores, e T10 não diferiu destes tratamentos (Tabela 1).

Quanto ao número de raízes, T8 apresentou maior média, diferindo estatisticamente apenas dos tratamentos T4, T6 e T12 (Tabela 1). Araújo *et al.* (2006), estudando meio de cultura Knudson C para o desenvolvimento *in vitro* de plântulas de um híbrido de *Cattleya*, observaram maior número de raízes formadas quando os meios foram suplementados com 50 ou 100 g L⁻¹ de polpa de banana-nanica e 100 mL L⁻¹ de água de coco, sendo os menores valores obtidos em meios sem a polpa de banana. Os mesmos autores ainda concluíram que a adição de 100 g L⁻¹ de polpa de banana-nanica ao meio de cultura Knudson C promoveu o aumento da massa de matéria fresca de raízes, bem como o crescimento da parte aérea. Em relação à concentração de polpa de banana, Seeni & Latha (2000) observaram maior número de raízes quando o meio nutritivo continha 35 g L⁻¹ de polpa de banana.

O comprimento médio das raízes não diferiu estatisticamente para os tratamentos T2, T3, T4, T7, T8, T10 e T12. Porém, para massa de matéria seca das raízes foi constatado maior acúmulo em T10, seguido de T8 e T12 (Tabela 1).

Da Silva (2003) obteve melhores resultados na propagação *in vitro* de *Cattleya tigrina* A. Rich. utilizando um meio de cultura com fertilizante Dyna-Gro® (07-09-05), tomate e água de coco, quando comparado ao meio MS. Dronk (2004) também obteve melhores resultados na propagação de *Cattleya amethystoglossa* Linden & Rehb. f.

ex Warner utilizando meio de cultura com fertilizante Dyna-Gro® (07-07-07), acrescido de banana e água de coco. Porém, a utilização fertilizante Dyna-Gro® (09-03-06) para o desenvolvimento *in vitro* de *Phalaenopsis*, não apresentou resultados satisfatórios, mesmo quando acrescido de polpa de banana.

Outros autores também verificaram efeito positivo no uso de fertilizantes comerciais em substituição aos sais do meio MS na formulação de meios de cultura para o desenvolvimento de várias espécies de orquídeas *in vitro*. Cunha *et al.* (2011), utilizando fertilizantes comerciais em meio de cultura para o cultivo de *Laeliocattleya schilleriana*, tiveram resultados superiores para todas as variáveis analisadas no meio composto pelo fertilizante Hyponex® (6,5-06-19).

Pedroso-de-Moraes *et al.* (2009), trabalhando com micropropagação de *Cattleya tigrina* em meios simplificados, observaram que a planta apresentou melhor desenvolvimento em meio composto com o fertilizante Kristalon Laranja® (06-12-36) quando comparado ao meio MS com metade da concentração de micronutrientes. Tal fertilizante apresenta os mesmos macro e micronutrientes encontrados no fertilizante Biofert®.

CONCLUSÃO

O meio de cultura composto por Biofert®, acrescido de polpa de banana, pode ser utilizado para o cultivo *in vitro* do híbrido de *Phalaenopsis* (*P. amabilis* x *P. equestris*) avaliado.

REFERÊNCIAS

- Araújo AG, Pasqual M, Villa F & Costa FC (2006) Água de coco e polpa de banana no cultivo *in vitro* de plântulas de orquídea. *Revista Ceres*, 53:608-613.
- Arditti J & Ernest R (1992) *Micropropagation of orchids*. 1ª ed. California, A Wiley – Interscience Publication. 680p.
- Campos DM (2002) Orquídeas: Micropropagação e quimioterapia de meristemas. 1ª ed. Rio de Janeiro, Expressão e Cultura. 112p.
- Cunha T, Cordeiro GM, Massaro R, Dezan LF & Pedroso-de-Moraes C (2011) Desenvolvimento *in vitro* de *Laeliocattleya schilleriana* Rolfe em meios de cultivo simplificados. *Scientia Plena*, 7:1-5.
- Da Silva ALL (2003) Avaliação de uma receita para o cultivo de orquídeas *in vitro*. *Orquidário*, 17:28-30.
- Dronk AG (2004) Meios de cultura e condições de luminosidade para o cultivo *in vitro* de *Cattleya amethystoglossa* Linden & Rchib. F. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 30p.
- Faria RT, Santiago DC, Saridakis DP, Albino UB & Araújo R (2002) Preservation of the Brazilian orchid *Cattleya walkeriana* Gardner using *in vitro* propagation. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 2:489-492.
- Faria RT, Assis AM, Unemoto LK & Carvalho JFRP (2012) Produção de orquídeas em laboratório. 1ª ed. Londrina, Editora Mecenaz. 124p.
- Knudson L (1946) A new nutrient solution for the germination of orchid seed. *American Orchid Society Bulletin*, 14:214-217.
- Lee LL (2011) Biofábrica de *Phalaenopsis*. In: Lee TSG (Ed.) *Biofábrica de plantas: Produção industrial de plantas in vitro*. São Paulo, Antiqua. p.150-175.
- Murashige T & Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, 15:473-497.
- Pedroso-de-Moraes C, Santos NS, Massaro R, Cordeiro GM & Leal TS (2009) Desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya tigrina* A. Richard (Orchidaceae) utilizando fertilizantes comerciais. *Ensaio e Ciência: C. Biológicas, Agrárias e da Saúde*, 13:57-65.
- Seeni S & Latha PG (2000) *In vitro* multiplication and ecorehabilitation of the endangered blue Vanda. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 61:1-8.
- Tsai CC, Huang SC, Huang PL & Chou CH (2003) Phylogeny of the genus *Phalaenopsis* (Orchidaceae) with emphasis on the subgenus *Phalaenopsis* based on the sequences of the internal transcribed spacers 1 and 2 of rDNA. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 78:879-87.
- Vacin E & Went FW (1949) Some pH changes in nutrient solution. *Botanical Gazette*, 110:605-613.
- Vaz APA & Kerbauy GB (2005) Orchidaceae. In: Terao D, Carvalho ACPP & Barroso TCSF (Eds.) *Flores tropicais*. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica. p.25-41.