



ARTIGO ORIGINAL

Vanessa Favetta¹
Ronan Carlos Colombo¹
Ricardo Tadeu Faria^{1*}

¹Universidade Estadual de Londrina – UEL, Rod. Celso Garcia Cid, PR-445, km 380, CP 10.011, 86057-970, Londrina, PR, Brasil

Autor Correspondente:

*E-mail: faria@uel.br

PALAVRAS-CHAVE

Banana
Meio nutritivo
Propagação *in vitro*
Orquídea

KEYWORDS

Banana
Nutritive medium
In vitro propagation
Orchid

Cultivo *in vitro* de *Vanda tricolor* Lindl. em meios de cultura simplificados

In vitro cultivation of *Vanda tricolor* Lindl. in simplified culture media

RESUMO: As orquídeas do gênero *Vanda* são apreciadas pela exuberância de suas floradas e, diferentemente de outras orquídeas, essas plantas, de crescimento lento e monopodial, não apresentam brotações laterais que dão origem a novas mudas, características estas que lhes conferem alto valor de mercado. Então, para produzi-las em escala comercial, é preciso recorrer às técnicas de propagação *in vitro*, em que o meio de cultura adequado é um dos fatores mais importantes para o desenvolvimento das plântulas. Plântulas de *Vanda tricolor*, aos 150 dias de idade, foram subcultivadas em meio MS e meios de cultura à base de fertilizantes comerciais, com e sem adição de polpa de banana ‘Nanica’ (100 g L⁻¹). O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, composto por 12 tratamentos e seis repetições, com sete plântulas. Aos 180 dias, avaliaram-se as variáveis: área foliar; número de folhas e raízes; comprimento médio do sistema radicular e a matéria seca das folhas, raízes e total. Conclui-se que é possível utilizar o meio simplificado à base de fertilizante Biofert® (08-09-09) acrescido de polpa de banana em substituição ao meio MS para o desenvolvimento *in vitro* de *V. tricolor*.

ABSTRACT: Orchids of the genus *Vanda* are appreciated for the exuberance of their flowering; unlike other orchids, these plants present monopodial behavior, slow growth, and have no buds that give rise to new plants, which confer them high market value. Therefore, for production in commercial scale, the use of *in vitro* propagation techniques is necessary; in these techniques, adequate culture medium is one of the most important factors for seedling development. In this study, *Vanda tricolor* seedlings, with 150 days of age, were sub-cultivated in Murashige and Skoog (MS) culture medium and in culture medium based on commercial fertilizers, with and without addition of ‘Nanica’ banana pulp (100 g L⁻¹). The experimental design was completely randomized, with 12 treatments and six replicates with seven seedlings. After 180 days, the following variables were analyzed: leaf area, number of leaves and roots, average length of root system, dry matter of leaves and roots, and total dry matter. It was possible to conclude that the simplified medium based on Biofert® (08-09-09) fertilizer supplemented with banana pulp can be used instead of the MS medium for *in vitro* development of *V. tricolor* orchids.

1 Introdução

Vanda tricolor Lindl., originária de Java, pode atingir alguns metros de altura; produz de sete a 12 flores, cerosas e perfumadas, com cinco a oito centímetros de diâmetro, variáveis tanto na forma como na cor, mas normalmente brancas ou amarelas, muito pontuadas de vermelho acastanhado; as pétalas são, regra geral, torcidas em 180° (SUTTLEWORTH; ZIM; DILLON, 1993). Como essa espécie não tem a característica de produzir brotações laterais, a multiplicação por divisão de touceiras se torna impraticável. Dessa forma, o emprego das técnicas de cultivo *in vitro* supre satisfatoriamente a demanda do mercado, sendo, portanto, uma importante ferramenta a ser utilizada na produção de mudas (FARIA et al., 2012).

Os meios nutritivos empregados na propagação *in vitro* fornecem ao propágulo as substâncias essenciais ao crescimento (STANCATO; NÉRI; TAVARES, 2009). Uma grande variedade de protocolos de meios de cultivo é descrita na literatura e, das várias formulações de meios de cultura existentes, encontram-se algumas mais complexas e outras mais simplificadas (CID, 2010; FARIA et al., 2012).

O meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), um dos mais utilizados, tem sido modificado por vários pesquisadores ao longo dos anos. Ainda, há a utilização de meios bastante simplificados compostos por fertilizantes comerciais, açúcar de uso doméstico e polpa de frutas, como a banana, por exemplo, (UNEMOTO et al., 2007; VIEIRA et al., 2009; COLOMBO; FAVETTA; FARIA, 2012; SU; SCHNITZER; FARIA, 2012).

O uso de fertilizantes comerciais tem se intensificado como forma de facilitar o preparo de meios de cultura e reduzir os custos de produção para várias espécies de orquídeas (PEDROSO-DE-MORAES et al., 2009). Esses fertilizantes são, na sua maioria, compostos por nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) em diversas concentrações, e ainda podem conter outros macro e micronutrientes.

A suplementação dos meios de cultura com polpa de banana 'Nanica' vem apresentando resultados satisfatórios na propagação *in vitro* de orquídeas (ARAÚJO et al., 2006; STANCATO; ABREU; FURLANI, 2008; COLOMBO; FAVETTA; FARIA, 2012; SU; SCHNITZER; FARIA, 2012), por ser rica em sais (potássio, fósforo e magnésio) e vitaminas, como vitaminas A e C, tiamina, riboflavina e niacina (ARDITTI, 2008). Assim, a adição de polpa de banana nos meios de cultura simplificados supre a carência e/ou a ausência de minerais que não são encontrados em fertilizantes comerciais, bem como de vitaminas e outros compostos orgânicos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de fertilizantes comerciais e a adição da polpa de banana 'Nanica' no desenvolvimento *in vitro* de plântulas de *V. tricolor*.

2 Material e Métodos

A condução do trabalho se deu no Departamento de Agronomia, Laboratório de Cultura de Tecidos, da Universidade Estadual de Londrina-UEL. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, composto de 12 tratamentos (meios de cultura) com seis repetições por tratamento e sete plântulas em cada repetição.

Os meios de cultura testados foram os seguintes: MS modificado, com metade dos macronutrientes (T1); MS modificado, com metade 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, antes da adição do ágar, e autoclavado à temperatura de 121 °C e com pressão de 1 atm durante 20 min.

Plântulas de *V. tricolor*, originárias de sementes germinadas *in vitro*, em meio MS com metade da concentração dos macronutrientes, aos 150 dias após a semeadura, foram subcultivadas em frascos de vidro com capacidade de 350 mL, contendo 50 mL dos meios de cultura testados. Os frascos foram acondicionados em sala de cultivo à temperatura de 26 °C e fotoperíodo de 16 h.

Aos 180 dias, avaliaram-se as variáveis: área foliar (mm²), número de folhas e raízes, comprimento médio do sistema radicular (cm) e a matéria seca das folhas, raízes e total (g). Para a obtenção da área foliar, utilizou-se o *software* ImageJ; para obtenção da matéria seca, as folhas e raízes foram secas em estufa a 65 °C até atingirem massa constante. Os resultados foram analisados por Análise de Variância (ANAVA) 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 $\sqrt{x + 1}$.

3 Resultados e Discussões

Analisando-se a área foliar das plântulas, observam-se nos tratamentos T2 e T8 (MS e Biofert®), ambos acrescidos de polpa de banana, folhas mais expandidas (Tabela 1) e maior acúmulo de matéria seca (Tabela 2) na parte aérea em relação aos demais tratamentos, indicando mudas de qualidade superior.

O incremento na produção de matéria seca é, em grande parte, decorrente da taxa de alongamento foliar (DEUNER et al., 2008), pois o aumento da área foliar pode elevar a transpiração das plântulas e, com isso, otimizar a fixação de carbono; como consequência, ocorre o acúmulo de matéria seca.

Pode-se inferir que os desempenhos semelhantes destes tratamentos devem-se à presença de, praticamente, os mesmos sais nesses meios de cultura (N, P, K, Mg, S, B, Cl, Co, Cu, Fe, Mn, Mo e Zn), além do benefício da adição de polpa de banana.

Para a variável número de folhas, observa-se pequena variação, de cinco a sete folhas por plântula (Tabela 1), em média. Apesar de existir diferença estatística significativa entre alguns tratamentos, pode-se destacar, neste trabalho, que essa variável, sozinha, não pode ser usada como parâmetro para a

Tabela 1. Valores médios para área foliar (af), número de folhas (nf), número de raízes (nr) e comprimento médio do sistema radicular (cmsr) de plântulas de *Vanda tricolor* Lindl., subcultivadas em diferentes meios de cultura, após 180 dias de cultivo.

Meios de cultura	af (mm ²)		nf***		nr***		cmsr (cm)	
T1*	735,19	b**	7,10	ab	3,98	ab	14,88	bc
T2	1132,95	a	7,48	a	4,36	a	22,17	a
T3	350,10	d	6,12	abc	3,10	b	11,67	c
T4	600,19	bc	5,74	abc	3,76	ab	21,63	ab
T5	530,45	bcd	6,86	abc	4,07	a	15,90	abc
T6	530,40	bcd	5,60	bc	3,67	ab	16,62	abc
T7	361,37	d	5,81	abc	3,60	ab	11,12	c
T8	1049,62	a	6,42	abc	3,87	ab	21,85	a
T9	513,62	bcd	6,09	abc	3,90	ab	13,38	c
T10	661,29	bc	5,29	c	3,98	ab	14,93	bc
T11	533,52	bcd	5,60	bc	3,81	ab	14,62	c
T12	486,31	cd	5,79	abc	4,12	a	13,07	c
CV (%)	18,65		14,80		12,31		21,98	

*MS modificado, com metade dos macronutrientes (T1); MS modificado, com metade 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). **Valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. ***Valores médios não transformados.

Tabela 2. Valores médios para massa seca de folhas (msf), raízes (msr) e total (mst) de plântulas de *Vanda tricolor* Lindl., subcultivadas em diferentes meios de cultura após 180 dias de cultivo.

Meios de cultura	msf (g)		msr (g)		mst (g)	
T1*	0,04	b**	0,03	cd	0,07	cde
T2	0,07	a	0,08	ab	0,14	a
T3	0,02	c	0,03	cd	0,05	de
T4	0,04	b	0,08	a	0,12	ab
T5	0,03	bc	0,04	bcd	0,07	bcde
T6	0,03	bc	0,07	ab	0,10	abc
T7	0,02	c	0,02	d	0,04	e
T8	0,06	a	0,08	a	0,15	a
T9	0,02	bc	0,04	bcd	0,07	cde
T10	0,04	b	0,08	ab	0,11	abc
T11	0,03	bc	0,05	abcd	0,08	bcde
T12	0,03	bc	0,06	abc	0,09	bcd
CV (%)	23,93		33,45		25,38	

*MS modificado, com metade dos macronutrientes (T1); MS modificado, com metade 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). **Valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

definição de um meio de cultura. No entanto, ao correlacionar essa variável com a variável área foliar, verifica-se correlação igual a 0,58, indicando que não há forte dependência entre o número de folhas e aumento da área foliar. Assim, é possível confirmar que, nos tratamentos T2 e T8, as folhas estavam mais expandidas do que nos demais tratamentos, apresentando, por consequência, plântulas de qualidade superior.

Para número de raízes, verifica-se, em média, de três a quatro raízes por plântula (Tabela 1). Ao se comparar os meios de cultura, formulados com o mesmo sal, com e sem adição de polpa de banana, não se encontra diferença estatística entre estes, indicando que a polpa de banana não exerceu influência direta sobre essa variável. Corroborando com os resultados deste trabalho, Su, Schnitzer e Faria (2012) não observaram diferenças significativas no número de raízes de plântulas de *Dendrobium nobile* subcultivadas, em meios simplificados, na presença e na ausência de polpa de banana.

No entanto, Araújo et al. (2006) observaram que, à medida que se adicionou polpa de banana ao meio Knudson C, aumentou-se o número de raízes formadas e, conseqüentemente, a matéria fresca de raízes no híbrido de *Cattleya* estudado.

A adição da polpa de banana aos meios de cultivo teve efeito benéfico para o comprimento médio do sistema radicular nos tratamentos T2, T4, T6 e T8 (Tabela 1). Em trabalhos realizados por Su, Schnitzer e Faria (2012), com *Dendrobium nobile*, e por Araújo et al. (2006), com híbrido de *Cattleya*, a adição de polpa de banana em meios simplificados e Knudson C, respectivamente, também proporcionou incremento no desenvolvimento das raízes dessas orquídeas.

Maior incremento no acúmulo de matéria seca total pôde ser observado para as plântulas subcultivadas nos meios de cultura suplementados com polpa de banana (T2, T4, T6, T8, T10), exceto T12 (Tabela 2), podendo-se atribuir o incremento observado a esse aditivo. Stancato, Abreu e Furlani (2008), trabalhando com o cultivo *in vitro* de *Laelia longipes*, *Laelia tenebrosa* e *Miltonia spectabilis*, em meios de cultura à base de fertilizante NPK 10-10-10 (1 g L⁻¹) e 10-30-20 (1 g L⁻¹) suplementados com polpa de banana, também encontraram maior acúmulo de matéria seca em relação a meios de cultura não suplementados.

A polpa de banana ‘Nanica’, segundo Simão (1971), apresenta 19% de açúcares e 1% de amido, sendo basicamente composta de água (70%), proteína (1,2%), carboidratos ricos em fósforo (27%), além de apresentar regular teor de cálcio, ferro, cobre, zinco, iodo, manganês e cobalto; Arditti (2008) ainda cita a polpa de banana como fonte de potássio e vitaminas A e C, tiamina, riboflavina e niacina. Portanto, os compostos presentes nessa fruta enriquecem os meios nutritivos com compostos minerais e orgânicos, sendo estes facilmente absorvidos pelas plântulas estabelecidas *in vitro*. Dessa forma, podem incrementar o desenvolvimento das mesmas.

4 Conclusões

O meio simplificado à base de fertilizante Biofert® e o meio MS, acrescidos de polpa de banana ‘Nanica’, podem ser usados no cultivo *in vitro* de *V. tricolor*.

O emprego de fertilizante comercial e polpa de banana ‘Nanica’ na propagação *in vitro* de *V. tricolor* pode ser adotado em detrimento ao meio MS, sem que se perca a qualidade das plântulas.

Referências

- ARAÚJO, A. G.; PASQUAL, M.; VILLA, F.; COSTA, F. C. Água de coco e polpa de banana no cultivo *in vitro* de plântulas de orquídea. *Revista Ceres*, v. 53, n. 310, p. 608-613, 2006.
- ARDITTI, J. *Micropropagation of orchids*. California: A Wiley - Interscience Publication, 2008. v. 1.
- CID, L. P. B. *Cultivo in vitro de plantas*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. 303 p.
- COLOMBO, R. C.; FAVETTA, V.; FARIA, R. T. Fertilizantes comerciais e polpa de banana no cultivo *in vitro* de um híbrido de *Phalaenopsis* (Orchidaceae). *Revista Ceres*, v. 59, n. 6, p. 873-876, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-737X2012000600019>
- DEUNER, S.; NASCIMENTO, R.; FERREIRA, L. S.; BADINELLI, P. G.; KERBER, R. S. Adubação foliar e via solo de nitrogênio em plantas de milho em fase inicial de desenvolvimento. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 32, n. 5, p. 1359-1365, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542008000500001>
- FARIA, R. T.; ASSIS, A. M.; UNEMOTO, L. K.; CARVALHO, J. F. R. P. *Produção de Orquídeas em Laboratório*. Londrina: Mecenas, 2012. 124 p.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, v. 15, p. 473-497, 1962. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- PEDROSO-DE-MORAES, C.; SANTOS, N. S.; MASSARO, R.; CORDEIRO, G. M.; LEAL, T. S. Desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya tigrina* A. Richard (Orchidaceae) utilizando fertilizantes comerciais. *Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde*, v. 13, n. 2, p. 57-65, 2009.
- SIMÃO, S. *Manual de Fruticultura*. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda., 1971. 530 p.
- STANCATO, G. C.; ABREU, M. F.; FURLANI, A. M. C. Crescimento de orquídeas epífitas *in vitro*: adição de polpa de frutos. *Bragantia*, v. 67, n. 1, p. 51-57, 2008.
- STANCATO, G. C.; NÉRI, F. C. S.; TAVARES, A. R. Micropropagação de violeta africana. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, v. 15, n. 2, p. 165-170, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052008000100006>
- SU, M. J.; SCHNITZER, J. A.; FARIA, R. T. Polpa de banana e fertilizantes comerciais no cultivo *in vitro* de orquídea. *Científica*, v. 40, n. 1, p. 28-34, 2012.
- SUTTLEWORTH, F. S.; ZIM, H.; DILLON, G. *Orquídeas: guia dos orquidófilos*. 4. ed. Rio de Janeiro: Expressão e Cultura, 1993. 158 p.
- UNEMOTO, L. K.; FARIA, R. T.; VIEIRA, A. O. S.; DALIO, R. J. D. Propagação *in vitro* de orquídeas brasileiras em meio de cultura simplificado. *Revista Brasileira Agrociência*, v. 13, n. 2, p. 267-269, 2007.
- VIEIRA, J. G. Z.; UNEMOTO, L. K.; YAMAKAMI, J. K.; NAGASHIMA, G. T.; FARIA, R. T.; AGUIAR, R. S. Propagação *in vitro* e aclimatização de um híbrido de *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) utilizando polpa de banana e água de coco. *Científica*, v. 37, n. 1, p. 48-52, 2009.