

INFLUENCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS NA ACLIMATAÇÃO E REINTRODUÇÃO DE PLÂNTULAS DE ORQUÍDEAS DO GÊNERO *ENCYCLIA* OBTIDAS POR PROPAGAÇÃO *IN VITRO*.

GISELE JOZINA RESENDE DINIZ MELO¹, GILCILENE TONUSSE², MARÍLIA SOUZA³, ISABELLA CAMPELO⁴.

1,2,3,4 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas – Campus
Barbacena

giseleresendediniz@hotmail.com

1. Introdução

As orquídeas são plantas ornamentais, de alto valor comercial e estão entre as mais apreciadas em todo o mundo. No Brasil, já foram identificadas mais de 3.500 espécies de orquídeas, porém, muitas destas estão correndo risco de extinção, devido à destruição de seu *habitat* e às coletas predatórias (UNEMOTO et al, 2007).

Elas são plantas de difícil propagação natural, porque possuem sementes muito pequenas sem reserva nutricional suficientes à sua germinação. Por isso, há a necessidade de associação simbiótica com fungos micorrízicos para viabilizar a germinação em ambiente natural (VALADARES et al, 2008).

De acordo com Unemoto et al (2007) devido à dificuldade na propagação, muitas técnicas para o cultivo de orquídeas estão sendo estudadas visando a preservação de espécies ameaçadas de extinção, bem como a produção de mudas em escala comercial para atender a um crescente mercado.

A cultura de tecidos tem se mostrado eficiente visto que torna possível a obtenção de um grande número de indivíduos cultivados em condições assépticas, o que os torna livres de patógenos e ainda com a vantagem de utilizar um espaço físico menor do que aquele exigido nos processos convencionais de multiplicação.

Antes da reintrodução das plântulas cultivadas *in vitro* ao seu habitat natural ou outro destino, elas precisam passar por um processo de aclimação para garantir sua sobrevivência. É importante ressaltar que ainda há poucos trabalhos cujo objetivo seja o estudo de métodos que reduzam a taxa de mortalidade de plântulas *in vitro* na fase de aclimação e principalmente sobre a reintrodução de espécies de plantas ameaçadas no seu habitat. A escolha de plantas de orquídea do gênero *Encyclia* se

deu pelo fato de serem espécies epífitas, brasileiras, de ocorrência comum em fragmentos remanescentes da Mata Atlântica.

Palavras chave: orquídea, micorriza, cultivo *in vitro*

Categoria/Área: BIC (PROBIC/FAPEMIG; PIBIC/CNPq; PIBIC-Af/CNPq; PIBICTI/IF Sudeste MG)/Ciências Agrárias.

2. Objetivos

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de fungos micorrízicos na aclimação de plântulas de orquídeas do gênero *encyclia*, oriundas do cultivo *in vitro* e sua reintrodução ao seu habitat.

3. Materiais e métodos

A fase de aclimação foi iniciada no dia 19 de dezembro de 2013. Foram selecionadas 90 plantas com tamanho de 2 a 2,5 cm, oriundas do cultivo *in vitro* em meio MS (Murashige e Skoog -1962). Essas plantas foram dispostas em bandejas conforme sorteio com 15 plantas, divididas em três repetições nos seguintes substratos previamente autoclavados: esfagno (S1), substrato comercial de pinus (S2), e fibra desfiada de palmeira (S3); bem como um controle com plantas que não receberam o fungo micorrízico.

Utilizou-se raízes de orquídeas do gênero *encyclia* retiradas de plantas da estufa localizada no Núcleo de Agricultura do Instituto Federal do Sudeste de Minas, campus Barbacena, para a extração dos fungos micorrízicos.

As raízes coletadas dessas plantas foram lavadas superficialmente em água corrente por aproximadamente 5 minutos, em seguida imersas por 1 minuto em solução de álcool 70%, em capela já desinfetada. Posteriormente, foram lavadas em água destilada autoclavada e imersas em solução de hipoclorito de sódio a 20% por 7 minutos. Com o auxílio de uma lupa, as raízes foram seccionadas, o velame retirado, e os fragmentos contendo pélotons transferidos para placas de petri com meio BDA, conforme metodologia empregada por Souza et al (s/d), com modificações.

Após o crescimento e sucessivas repicagens dos fungos com o objetivo de obter colônias puras, fragmentos do meio contendo o fungo foram repicados para um

erlenmeyer de 250 ml com meio BDA líquido. Após oito dias de crescimento, o volume do Erlenmeyer foi homogeneizado em um shake com auxílio de um liquidificador previamente desinfetado. O volume final foi completado com água destilada estéril até 600 ml. Foram aplicados 10 ml desse volume em cada célula da bandeja ao redor das plântulas, exceto no controle; metodologia utilizada por CASTILLO (2012). As bandejas foram colocadas sobre uma mesa, cobertas com plástico, de modo a obter um ambiente com elevada umidade relativa. As irrigações eram realizadas quando o substrato se encontrava visualmente seco.

Durante a fase de aclimação, foram feitas avaliações trimestrais de sobrevivência e ao final de seis meses avaliou-se o crescimento das plantas que sobreviveram.

Para a análise estatística dos dados foi utilizada a análise de Variância (teste F) e as médias foram comparadas pelo teste (Tukey), considerando-se nível de significância 0,05% em todas as análises.

Após o período de aclimatização, seria iniciada a segunda parte do trabalho, que consistiria na reintrodução das plantas na mata, contudo em virtude de perdas de material e do pequeno desenvolvimento das plantas essa etapa não pôde ser realizada.

4. Resultados e discussões

A análise estatística baseada nos dados obtidos na primeira avaliação, realizada três meses após a montagem do experimento, apresentou uma diferença do S3CF (com fungo) e S2SF (sem fungo) em relação aos demais tratamentos. O S1CF apresentou nessa avaliação um melhor resultado. Na análise realizada seis meses após a montagem do experimento, apesar de não haver diferença significativa em relação aos tratamentos, o S3SF apresentou um melhor resultado. Observou-se que o tratamento S3CF embora tenha perdido na primeira análise um grande número de plantas, manteve o mesmo índice de sobrevivência ao final de seis meses.

Em relação ao comprimento final das plantas, não houve diferença significativa entre os tratamentos, contudo nota-se um resultado um pouco superior do S1SF em relação aos demais.

Essa baixa eficiência na taxa de sobrevivência de plantas associadas com fungos micorrízicos foi observada também por Corsato & Crocomo (2002), na aclimação de cultivares de morango micropropagados na presença de fungos

endomicorrízicos. Além desse fator há outros problemas na cultura de tecido, como alta variabilidade, devido a origem de explantes que variam em função, por exemplo, da posição na planta mãe, fase do desenvolvimento do órgão a que pertence, além da sazonalidade que podem interferir na resposta. Segundo Termignoni (2005) é recomendável que se repita no mínimo, três vezes o experimento, quando se utilizam-se plantas micropropagadas, assim os resultados serão mais precisos e evita-se que a casualidade seja responsável pelos resultados obtidos.

5. Conclusões

Não houve ao final do trabalho diferenças significativas em relação aos diferentes tratamentos. Contudo, o S3 (fibra de palmeira desfiada) e sem fungo (SF) tenha apresentado ao final da avaliação maior índice de sobrevivência e o S1 (esfagno) SF apresentou melhor resultado em relação ao comprimento final das plantas. Nesse caso não houve efeito significativo da inoculação do fungo micorrízico.

6. Referencias Bibliográficas

- 1- CASTILLO, N. F. O. **Efecto de Hongos Endofitos de Orquídeas Del grupo *Rhizoctonia* y otros Endófitos Cultivables sobre el desarrollo de plantas de *Vanilla planifolia* JACKS.** Universidad Nacional de Colombia (2012).
- 2- CORSATO, C. E & CROCOMO, O. J. **Aclimação de Vitroplantas de Morangueiro em presença de fungos endomicorrízicos.** Unimontes, Montes Claros (2002).
- 3- SOUSA, K. C. I et al. **Isolamento e identificação de fungos Micorrízicos *Epidendrum nocturnum* Jacq. (ORCHIDACEAE):** Instituto de Ciências Biológicas – ICB, Universidade Federal de Goiás – UFG. S/D, 5p.
- 4- TERMIGNONI, R.R. **Cultura de Tecidos Vegetais.** Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2005.

5- UNEMOTO, L. K et al. **Propagação *in vitro* de orquídeas brasileiras em meio de cultura simplificado**: Rev. Bras. Agrociência, Pelotas, v. 13, n.2, p. 267-269, abr-jun, 2007.

6- VALADARES, R.B.S et al. **Isolamento e Identificação de Fungos Micorrízicos de *Gomezia* SP (ORCHIDACEAE) em uma floresta de Araucária do Estado de São Paulo**. FertBio, 2008.

Agradecimentos

A todos que de alguma maneira contribuíram para a realização desse trabalho. Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – Sudeste de Minas Gerais – Campus Barbacena, pela oportunidade e a Fapemig, órgão patrocinador.

Bolsista(s) ou voluntário(as)
Gisele Josina Resende Diniz
Gilcilene ReisTonusse

Orientador(a)
Marília Maia de Souza
C0-ORIENTADOR
Isabela de Souza Gomes Campelo