

USO DO HIDROGEL EM CULTIVO DE PLANTAS *IN VITRO* DE BROMÉLIAS E ORQUÍDEAS.

Cíntia Vidigal¹, João Pedro Braga², Karen Onga³, Lara Furtado⁴, Marília Souza⁵

1, 2, 3, 4, 5 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais Campus Barbacena.

e-mail: csvidigal@msn.com

1. Introdução

As orquídeas estão entre as plantas ornamentais mais apreciadas e de maior valor comercial. 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 (COLOMBO et al., 2004).

O Brasil é também o grande berço das bromélias, cerca de 70% dos seus gêneros ocorrem em nosso território, alguns de forma exclusiva, o que representa quase 1200 táxons diferentes. A exploração econômica das bromélias teve início com os europeus e se estendeu através deles aos outros continentes. As bromélias estão entre as plantas ornamentais mais comercializadas no mundo e sua demanda é crescente na indústria de horticultura mundial. Dentre as bromeliáceas, os gêneros mais comercializados na indústria de horticultura mundial são em ordem decrescente de importância: *Guzmania*, *Vriesea*, *Aechmea*, *Neoreglia* e *Tillandsia* (CHONE, 2011).

Técnicas como a cultura de tecidos têm auxiliado na preservação de orquídeas e bromélias, tendo como uma de suas principais vantagens o manuseio de grande número de indivíduos em espaço reduzido e sob condições assépticas.

A semeadura *in vitro* de orquídeas e bromélias constitui técnica relevante do ponto de vista comercial e também ecológico. As plantas produzidas desta forma são altamente interessantes tanto para programas de reintrodução de espécies nativas em áreas de preservação ambiental, como também supre satisfatoriamente a demanda no mercado de mudas (MARTINI et al., 2001; FARIA et al., 2012).

Dentre as formulações mais utilizadas na germinação, crescimento e micropropagação de orquídeas está o meio MS (Murashige & Skoog, 1962). A composição dos meios de cultura é baseada nas exigências nutricionais das plantas, sem as quais não se desenvolveriam. Os componentes importantes são: os sais inorgânicos, a água, carbono(sacarose), vitaminas e um agente gelificante. O agente gelificante tradicionalmente utilizado é o ágar (extraído da alga marinha *Gelidium amansii*) ou o

gelrite, de origem bacteriana (FARIA et al., 2012). Um agente gelificante alternativo é o hidrogel a base de poliacrilamida que reduz os custos do processo de produção de mudas 'in vitro' (MORAES et al., 2013).

Hidrogéis são polímeros hidro absorventes, são produtos naturais, derivados do amido, ou sintéticos, derivados do petróleo. Quando imerso em meio aquoso, o polímero chega a absorver de 200 a 400 vezes seu peso em água e aumenta seu tamanho em até 100 vezes (CÂNDIDO, 2009). Os hidro absorventes mais frequentemente usados são os polímeros sintéticos propenamida (PAM) e os co-polímeros propenamida-propenoato (PAA), usados como floculantes principalmente em fraldas e para depósitos de líquidos químicos residuais (BUZETTO et al. 2002).

Quanto ao efeito dos hidrogéis na disponibilidade de nutriente e na retenção de água tem sido estudado por vários pesquisadores obtendo-se resultados que indicam a influência favorável dos hidrogéis na disponibilidade de macro e micronutrientes para as plantas além de não interferir no pH do substrato (AZEVEDO et al., 2002).

Palavras chave: Hidrogel, Cultivo *in vitro*, Bromélia, Orquídea.

Categoria/Área: BIC Jr (PROBIC Jr./FAPEMIG; PIBIC-EM/CNPq)/ Ciências Agrárias.

2. Objetivos

- Avaliar o potencial de desenvolvimento e crescimento de plantas utilizando hidrogel de poliacrilamida de sódio em condição de cultivo *in vitro*.
- Reduzir o custo e facilitar o preparo do meio nutritivo para o cultivo de plantas *in vitro*.
- Treinar os estudantes bolsistas em atividades de pesquisa em laboratório.

3. Materiais e Métodos

O experimento foi realizado no laboratório de micropropagação situado no núcleo de química do Instituto Federal Sudeste MG - Campus Barbacena. O meio nutritivo que foi utilizado é o meio Murashige & Skoog (1962) ou meio MS, por ser considerado o meio de cultura básico para o cultivo *in vitro* de plantas. Em cada tubo de ensaio de 25 x 125 mL foi adicionado o volume de 20 mL de meio MS líquido com 30g de sacarose. Foram realizados três tipos de tratamentos inteiramente casualizados com diferentes concentrações de hidrogel para a solidificação do meio, sendo essas concentrações de 16, 18 e 20 gramas por litro. Foi realizado também um tratamento com o uso do ágar para comparar a diferença do desenvolvimento das plantas.

O pH do meio foi ajustado na faixa de 5,6 a 5,8 antes da inclusão do hidrogel. Em

seguida, os tubos foram tampados com tampas de plástico e autoclavados por 30 minutos a 121 graus celsius e 1 atm.

Testou-se dois tipos de hidrogel: em esferas e em pó, entretanto, o uso do hidrogel em esferas não apresentou condições satisfatórias para a fixação das plântulas e sementes no mesmo, e, por isso, optou-se por utilizar o hidrogel em pó (Reflorgel HID, marca: OX QUÍMICA Agrociência).

A esterilização dos tubos foi realizada após a absorção total do meio nutritivo líquido pelo pó de hidrogel.

Foram montados dois experimentos, um para analisar a influência do hidrogel no desenvolvimento da germinação de sementes de bromélia *Aechmea blanchetiana*, e outro para analisar o efeito do mesmo no desenvolvimentos de plântulas de orquídia do gênero *Encyclia*. Após a inoculação das sementes e das plântulas de orquídeas nos tubos, esses foram fechados e transferidos para a sala de crescimento sob temperatura de aproximadamente 25 graus celsius, e fotoperíodo de 16 horas com luminosidade de aproximadamente $100 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

- Experimento 1: Teste de germinação de semente de bromélia.

Foram testadas 3 concentrações de hidrogel (16, 18 e 20 g/L), com 3 repetições cada tratamento, contendo 7 tubos como unidade experimental em cada repetição. Como testemunha, realizou-se um tratamento utilizando ágar como agente gelificante do meio. Em cada tubo foram inoculadas 3 sementes previamente estelizadas no álcool 70% por 5 minutos e, em seguida, no hipoclorito de sódio 5% por 20 minutos. Por fim, as sementes foram lavadas 3 vezes em água destilada autoclavada e inoculadas nos meios nutritivos contidos nos tubos.

- Experimento 2: Desenvolvimento de plântulas de orquídea germinadas *in vitro*.

Foram testadas 3 concentrações de hidrogel (16, 18 e 20 g/L), com 3 repetições cada tratamento, contendo 5 tubos como unidade experimental em cada repetição. Como testemunha, realizou-se um tratamento utilizando ágar como agente gelificante do meio. Em cada tubo foi inoculada uma plântula de 1 cm de comprimento, início da formação da raiz e um par de folhas, previamente enxaguadas em água destilada para a retirada do excesso de meio presente entre suas raízes.

Em ambos os experimentos, os procedimentos de inoculação foram realizados no interior de uma câmara de fluxo laminar esterilizada. Foram feitas avaliações semanais para analisar o desenvolvimento das plantas e verificar a presença de contaminações, sendo esses tubos todos descartados.

Setenta dias após a inoculação das sementes de bromélia e das plântulas de orquídea,

observou-se as seguintes variáveis: o comprimento da parte aérea das plantas, a determinação da massa fresca e da massa seca, o número de pares de folhas e o comprimento das raízes. Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente, através da análise de variância (ANOVA), e a comparação de médias foi realizada pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4. Resultados e Discussão

- Experimento 1: Com os resultados obtidos da análise estatística verificou-se que não houve uma diferença significativa do Ágar (tratamento 4) para o tratamento 1 (16g/L de hidrogel) levando em conta as variáveis: Massa Fresca, Massa Seca, Parte Aérea e Par de Folhas. Contudo, os tratamentos 2 e 3 (18 e 20g/L de hidrogel, respectivamente) apresentaram diferenças significativas em relação ao Ágar em todos os parâmetros já citados, com exceção da parte aérea e massa seca.

-Experimento 2: Com os resultados obtidos da análise estatística verificou-se que não houve uma diferença significativa do Ágar (tratamento 4) para o tratamento 1 (16g/L de hidrogel) levando em conta as variáveis: Massa Fresca, Massa Seca, Parte Aérea e Par de Folhas. O tratamento 2 (18g/L de hidrogel) apresentou diferenças significativas em relação ao Ágar em todos os parâmetros já citados, com exceção da parte aérea e da massa seca. Já o tratamento 3 (20g/L de hidrogel) se assemelhou ao Ágar apenas em relação à parte aérea.

Quanto ao desenvolvimento do sistema radicular, todos os tratamentos nos dois experimentos apresentaram grandes diferenças em relação ao tratamento realizado com o Ágar. Altas concentrações de hidrogel já foram relacionadas com menor formação de raiz em pesquisas realizadas por **HAFLE** et al. (2008) sobre a produção de mudas do maracujazeiro-doce utilizando hidrogel e por **CRUZ** et al. (2008) no desenvolvimento de porta-enxerto de tangerina.

Os gráficos que se seguem apresentam os resultados estatísticos obtidos. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5. Conclusão

1. A substituição do Ágar por hidrogel foi eficiente na concentração de 16g por litro de meio, ainda que a consistência não seja igual.
2. Concentrações maiores que 16g de hidrogel por meio interferem no desenvolvimento das plantas.

3. O desenvolvimento do sistema radicular foi prejudicado pelo uso de altas concentrações de hidrogel.

6. Referências Bibliográficas

1. HAFLER, O.M.; CRUZ, M.C.M.; RAMOS, J.D.; RAMOS, P.S.; SANTOS, V.A. **Produção de mudas de maracujazeiro-doce através da estaquia utilizando polímero hidrorretentor**. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v. 3, n. 3, p. 232-236, 2008.
2. MARQUES, P.A.A.; BASTOS, R. O. **Uso de diferentes doses de hidrogel para produção de mudas de pimentão**. Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia v.3 n.2 Mai. Ago. 2010 Print-ISSN 1983-6325 (On line) e-ISSN 1984-7548.
3. ANDRADE, M.B.; SIQUEIRA, I.T.D.; RÉGIS, E.B.M. **Influência de hidrogel no desenvolvimento de alface**. JEPEX - UFRPE – Pernambuco, 2013.
4. CRUZ, M.C.M.; HAFLER, O.M.; RAMOS, J.D.; RAMOS, P.S. **Desenvolvimento do porta-enxerto de tangerineira ‘cleópatra’**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP, v. 30, n. 2, p. 471-475, Junho 2008.
5. GERALD, L.T.S. (Org.). **Biofábrica de plantas: produção industrial de plantas *in vitro***. São Paulo: Aniqua, 2011. 207-229 p.
6. FARIA, R.T. ET AL. **Produção de orquídeas em laboratório**. Londrina – PR: Editora Mecenaz, 2012.

7. Agradecimentos

Ao IF Sudeste MG localizado no município de Barbacena pela disponibilização do laboratório de microbiologia, à professora Marília Maia de Souza pela orientação, ao CNPQ pela concessão da bolsa BIC Jr e aos amigos que nos apoiaram.

Apoio financeiro: CNPQ

Bolsista(s) ou voluntário(as)
Cíntia Silva Vidigal
João Pedro Vianna Braga
Luiz Felipe Dantas Werneck
Karen Sakane Onga
Lara Rossi Furtado

Orientador(a)
Marília Maia de Souza