

Ocorrência da conversão de ápices radiculares de *Catasetum rooseveltianum* Hoehne (Orchidaceae) em plântulas em meio de cultivo comercial.

Cristiano Pedroso-de-Moraes¹, Adarilda Petini-Benelli² e Juan Fernández Gómez
Email para correspondência: ada.benelli@gmail.com

Resumo: Em relação ao sistema radicial da subtribo Catasetinae, um aspecto que chama a atenção é a competência relatada para algumas espécies de conversão do meristema apical em gemas caulinares capazes de originar plântulas inteiras em cultivo *in vitro*. Neste trabalho descrevemos a metodologia pela qual se obteve a conversão de ápices radiculares de *Catasetum rooseveltianum* em plântulas inteiras em meio de cultivo comercial e discutimos possíveis fatores relacionados à ocorrência de tal fenômeno.

Palavras-chaves: Catasetinae, produção vegetal, regeneração *in vitro*.

Abstract: (Occurrence of *Catasetum rooseveltianum* Hoehne (Orchidaceae) root tips conversion on seedlings in commercial culture media). With relation to the root system of Catasetinae subtribe, one aspect that draws attention is its competence, reported for some species, of the conversion of the apical meristem in stem buds that are capable of generating entire seedlings in cultivation *in vitro*. This paper describes the methodology by which the conversion of root tips of *Catasetum rooseveltianum* in whole seedlings was obtained in a commercial culture media and discusses possible factors related to the occurrence of such a phenomenon.

Keywords: Catasetinae, plant production, *in vitro* regeneration.

Introdução

Catasetinae é uma subtribo circunscrita à subfamília Epidendroideae (Orchidaceae) e inclui sete gêneros que ocorrem em áreas Tropicais das Américas Central e do Sul (Hoehne, 1940; Romero, 1990; Pridgeon *et al.*, 2009). Enquanto a maioria das espécies de Catasetinae cresce como epífita na parte superior dos troncos de seus substratos naturais (Hoehne, 1938), uma pequena parte, é rupícola, crescendo sobre formações rochosas. Nas duas formas de vida, raízes carnosas, caracterizadas por abundante parênquima cortical (Pedroso-de-Moraes *et al.*, 2012), são fundamentais para a sobrevivência das plantas que, não raro, crescem a pleno sol. Algumas plantas do gênero também apresentam a particularidade de emitir finas raízes geotrópicas negativas (Pedroso-de-Moraes, 2000), as quais se originam secundariamente das raízes carnosas a partir de bifurcações. As raízes secundárias desenvolvem-se quando as várias raízes carnosas se sobrepõem em camadas espessas (Pedroso-de-Moraes *et al.*, 2012).

¹ Docente do Centro Universitário Hermínio Ometti

– Umarazas, Av. Maximiliano Barato, 500, CEP: 13706-900, Araras, SP, Brasil. E-mail: pedroso@uniararas.br

² Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade, UFMT Campus Cuiabá, Av. Fernando Correa da Costa, 2635, Cuiabá, CEP: 78060-900, Cuiabá, MT. E-mail: ada.benelli@gmail.com

O sistema radicial de algumas espécies de Catasetinae tem como característica a competência para a conversão do meristema radicial (tecido presente no interior ápice radicular), em gemas caulinares capazes de originar plântulas inteiras em cultivo *in vitro* (Kerbaudy, 1984; Kraus & Kerbaudy, 1992; Colli & Kerbaudy, 1993). No entanto, devido a sua complexidade, os sinais que controlam a competência para a conversão dos ápices em gemas caulinares continuam pouco conhecidos (Rodrigues, 2008).

O presente trabalho objetivou descrever a metodologia pela qual se obteve a conversão de ápices radiculares de *Catasetum rooseveltianum* Hoehne em plântulas em meio de cultivo comercial, assim como discutir os possíveis fatores relacionados à ocorrência de tal fenômeno.

Material e Métodos

Sementes de *C. rooseveltianum*, obtidas por endocruzamento (autofecundação), foram deixadas em repouso em água de coco durante cerca de quatro horas, sendo em seguida submetidas por dez minutos à agitação em solução de hipoclorito de sódio a 0,01%, para desinfestação.

Foi preparado meio de cultivo composto pelo fertilizante B&G orquídeas® (NPK 8-11-7) a 2 g.l⁻¹, acrescido de 200 ml.l⁻¹ de água de coco (*Cocos nucifera* L.), com pH ajustado para 5,8 antes da adição de 6 g.l⁻¹ de ágar. Adicionou-se 10 ml.l⁻¹ de hipoclorito de sódio a 10% e, posteriormente, verteu-se 50 ml do meio ainda quente em quatro frascos de 250 ml. Nesta metodologia é o vapor de hipoclorito de sódio que esteriliza o interior dos frascos.

Aproximadamente 1g de sementes foram inoculadas por frasco contendo o meio de cultivo (Arditti & Ernest, 1992). Os 10 frascos semeados foram fechados com tampa plástica transparente e mantidos durante 150 dias em sala de crescimento (11/09/2013 a 11/02/2014), à temperatura de 25 ± 2 °C, com um fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa de aproximadamente 116 μmol.m⁻².s⁻¹.

Após este período foram selecionadas plântulas com 2,0 cm de comprimento, caracterizadas por apresentarem parte aérea (estrutura caular) com cerca de 0,9 cm e raízes de 1,1 cm de comprimento (adaptado de Gusson *et al.*, 2012). As mesmas foram subcultivadas (repicadas) em meio de cultivo idêntico ao usado na germinação, com aproximadamente 25 plântulas por frasco.

Os frascos contendo os subcultivos foram submetidos às mesmas condições das sementes na sala de crescimento. Após mais 90 dias de cultivo, as plântulas foram retiradas dos frascos para o cálculo da percentagem de ocorrência de conversões radiciais (%CR).

Resultados e Discussão

Foi observada conversão de 48,7% dos ápices radiciais em novas plântulas (Figura 1). Este resultado evidenciou conversão moderada quando comparado ao obtido para ápices isolados de *Catasetum fimbriatum* Lindl., cultivados por 120 dias, em meio de cultivo Vacin e Went (1949) acrescido com 1 μg de citocina, que gerou 70% de conversões (Rodrigues, 2008).

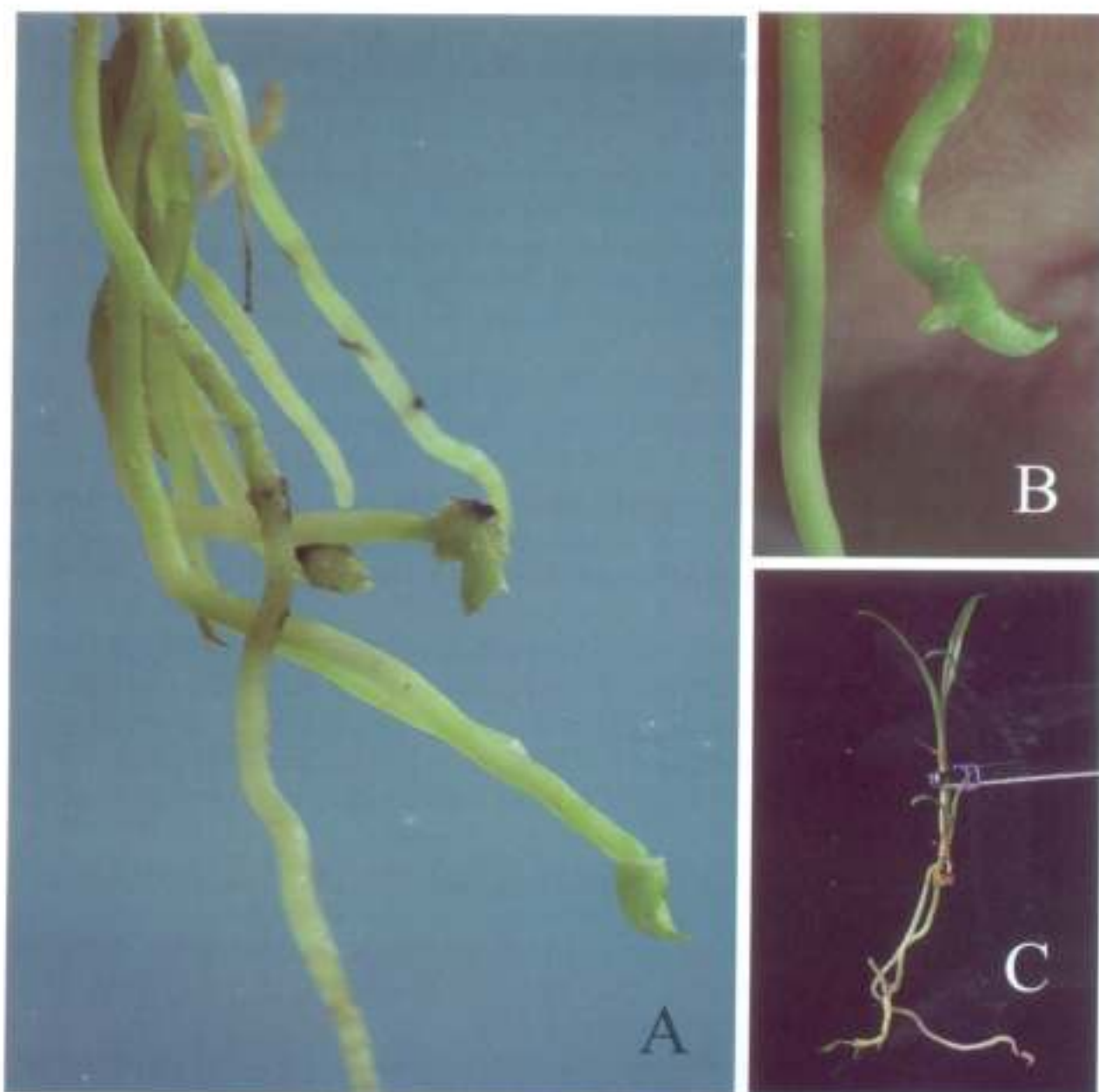


Fig.1. Conversão de ápices radiciais em plântulas de *Cattasetum rooseveltianum*, após 45 (A) e 90 (B e C) dias de crescimento *in vitro*. (Fotos: J. F. Gómez).

Estudos *in vitro* demonstram que a diminuição de custos de produção é possível pela simplificação dos meios de cultivo atuais, principalmente, pelo uso de fertilizantes como base de tais meios em substituição a soluções clássicas de macro e micronutrientes (Stancato *et al.*, 2001), ou pelo simples uso de meios de cultivo prontos, como por exemplo, B&G orquídeas®, os quais nada mais são que fertilizantes, acrescidos de carvão ativado e sacarose. Assim, a redução de custos e facilitação da produção de meios, ocorre pela não contratação de pessoal especializado (técnicos de laboratório) e equipamentos sofisticados, tais como, balanças analíticas de alta precisão (Pedroso-de-Moraes, 2000). Contudo, em relação às orquídeas a resposta às condições de cultivo *in vitro* difere amplamente entre gêneros, espécies, cultivares e até mesmo plantas de um mesmo genótipo cultivadas sob diferentes condições ambientais (Pedroso-de-Moraes *et al.*, 2009b) e ainda não foi encontrado um meio de cultivo que se adeque totalmente às exigências de gêneros, espécies, híbridos e/ou clones de forma generalizada.



Fig.2. A – *Catasetum rooseveltianum* Hochne, aspecto vegetativo; B – Inflorescência masculina; C – Flores masculinas em destaque. (Fotos: A. Petini-Benelli).

O emprego de meios de cultivo comerciais combinados à água de coco (endosperma líquido de *Cocos nucifera*) tem se intensificado, pois esta é rica em citocininas, hormônio vegetal responsável pela mobilização de nutrientes por parte de plântulas, promoção da divisão celular e formação de embriões somáticos em cultivo *in vitro* (Pedroso-de-Moraes *et al.*, 2009a,b). A descrição da totipotencialidade das células vegetais sob cultivo *in vitro* ocorreu há cerca de cinquenta anos, mas ainda são escassas as informações sobre as bases moleculares que desencadeiam tal fenômeno (Verdeil *et al.*, 2007). Contudo, para a família Orchidaceae, singular totipotência é descrita para espécies pertencentes à subtribo Catasetinae (Rodrigues & Kerbaudy, 2009).

Os meristemas apicais de representantes de Catasetinae são capazes de se converter rapidamente em meristemas caulinares quando isolados e cultivados *in vitro* (Kerbaudy, 1984; Colli & Kerbaudy, 1993). Este fenômeno foi reportado como dependente do estágio do

desenvolvimento radicial (Rodrigues & Kerbaudy, 2009), sendo verificado que a capacidade de regeneração de meristema caulinar aumenta à medida que a raiz envelhece (Kerbaudy, 1999; Rodrigues *et al.*, 2007; 2008), diferentemente do observado para *C. rooseveltianum* que apresentou considerável taxa de conversão em ápices radiciais jovens. Entretanto, a espécie observada apresentou comportamento semelhante ao dos tecidos meristemáticos da maioria das angiospermas, para as quais, é comum um maior potencial regenerativo em tecidos relativamente mais jovens (Kerbaudy, 1999; Rodrigues *et al.*, 2007; 2008).

Conclusão

A totipotência do tecido meristemático radicial de *C. rooseveltianum*, aliada à presença de citocininas (oriundas da água de coco) e a uma fonte balanceada de sais minerais, obtidas pelo emprego do meio de cultivo comercial, são considerados como os fatores responsáveis pela taxa de regeneração radicial apical obtida neste trabalho. Considera-se que esta taxa de conversão permite um aumento significativo de propagação, que poderá corresponder a uma maior produção de plântulas para o mercado orquidicultor.

Referências bibliográficas

- Arditti, J.; Ernest, R. 1992. Micropropagation of orchids. New York: John Wiley & Sons. 682p.
- Colli, S.; Kerbaudy, G.B. 1993. Direct root tip conversion of *Catasetum* into protocorm-like bodies. Effects of auxin and cytokinin. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 33: 39-44.
- Gusson, R.R.; Pedroso-de-Moraes, C.; Ronconi, C.C. 2012. Influência de diferentes concentrações de carvão ativado no crescimento e enraizamento *in vitro* de *Cattleya pumila* Hook. *Rama: Revista em Agronegócio e Meio Ambiente* 5: 551-563.
- Hoehne, F.C. 1938. As plantas ornamentais da flora brasileira. *Boletim de Agricultura* 1: 247-273.
- Hoehne F.C. 1940. Orchidaceas. In: Hoehne, F.C. (Ed), *Flora Brasílica* 12(1): 1-254. São Paulo: Secretaria da Agricultura, Indústria e Comércio de São Paulo.
- Kerbaudy, G.B. 1984. Regeneration of protocorm-like bodies through *in vitro* culture of roots tips of *Catasetum* (Orchidaceae). *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 113: 287-291.
- Kerbaudy, G.B. 1999. Competência e determinação celular em cultura de células e tecidos de plantas. In: Torres, A.C.; Caldas, L.S.; Buso, J.A. (eds). *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*, 2: 519-531. Embrapa, Brasília.
- Kraus, J.E.; Kerbaudy, G.B. 1992. Formation of protocorm like bodies from root apices of *Catasetum pileatum* (Orchidaceae) cultivated *in vitro* II Some non-hormonal requirements involved in the regeneration. *Boletim de Botânica*, São Paulo, 13: 31-40.
- Pedroso-de-Moraes, C. 2000. *Cultivo de Orquídeas*. Araras, SP: Pró-Reitoria de Comunidade e Extensão do Centro Universitário Herminio Ometto - UNIARARAS. 130p.
- Pedroso-de-Moraes, C.; Diogo, J.A.; Pedro, N.P.; Canabrava, R.L.; Martini, G.A.; Marteline, M.A. 2009a. Desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae) utilizando fertilizantes comerciais. *Revista Brasileira de Biociências* 7: 67-69.

- Pedroso-de-Moraes, C.; Santos, N.S.; Massaro, R.; Cordeiro, G.M.; Souza-Leal, T. 2009b. Desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya tigrina* A. Richard. (Orchidaceae) utilizando fertilizantes comerciais. *Ensaio e Ciência* 13: p. 57-65.
- Pedroso-de-Moraes, C.; Souza-Leal, T.; Brescansin, R.L.; Petini-Benelli, A.; Sajo, M.G. 2012. Radicular anatomy of twelve representatives of the Catasetinae subtribe (Orchidaceae: Cymbidieae), *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 84: 455-467.
- Pridgeon, A.M.; Cribb, P.J.; Chase, M.A.; Rasmussen, F.N. (Eds). 2009. *Genera Orchidacearum*, vol. 5: *Epidendroideae (part two)*, Oxford: Oxford University Press. 585 p.
- Rodrigues, M.A.; Freschi, L.; Kerbaudy, G.B. 2007. Effects of auxin transport on competence acquisition to root apical meristem conversion of *Catasetum fimbriatum* into buds. *In Vitro Cellular & Developmental Biology* 43: 49.
- Rodrigues, M.A. 2008. *Sinalização no ganho de competência para a conversão de meristemas apicais radiculares de Catasetum fimbriatum em gemas caulinares*. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. São Paulo. 175pp.
- Rodrigues, M.A.; Freschi, L.; Kerbaudy, G.B. 2008. Nitrogen depletion is related to competence acquisition to root-to-shoot conversion in. *Cellular & Developmental Biology* 44: 77.
- Rodrigues, M.A.; Kerbaudy, G.B. 2009. Meristemas: fontes de juventude e plasticidade no desenvolvimento vegetal. *Hoehnea* 36: 525-550.
- Romero, G.A. 1990. Phylogenetic relationships in subtribe Catasetinae (Orchidaceae, Cymbidieae). *Lindleyana* 5: 160-181.
- Stancato, G.C.; Belmelmons, P.F.; Vegro, C.R.L. 2001. Produção de mudas de orquídeas a partir de sementes *in vitro* e sua viabilidade econômica: estudo de caso. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental* 7: 25-33.
- Vancin, E.F.; Went, F.W. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. *Botanical Gazette* 110: 605-671.
- Verdeil, J-L, Aemanno, L., Niemenak, N.; Tranbarger, T.J. 2007. Pluripotent versus totipotent plant stem cells: dependence versus autonomy? *Trends in Plant Science* 12: 245-252.



Orquidário Orquidófilos Associados

Participe das nossas reuniões, todas as 2^{as} e 4^{as} quintas feiras do mês, momento de convivência entre os sócios e boa oportunidade para troca de conhecimentos. Há sempre um tema em discussão. Junte-se a nós!