INTERFERENCIA DA DESCONTAMINAÇÂO DE SEMENTES ORQUIDEAS *Laelia tenebrosa* ROLFE NA GERMINAÇÂO E DESENVOLVIMENTO *IN VITRO*

Flávio Santos Lopes [1]***, Rithiely da Paschoa Queiroz*** [2]***, Priscila Andrade Silva*** [3]***, Muriel da Silva Folli*** [4] ***,Wanderson de Souza Rabello*** [5]***, Leandro Mendel da Cruz*** [6] ***, Ramom Santos de Minas*** [7] ***, José Augusto Teixeira do Amaral*** [8]***, Edilson Romais Schimildt*** [9]

[1]Graduando, Universidade Federal do Espírito Santo. Rua Vitório Albani, 67 B, CEP 29 500-000 Alegre – ES e-mail: lopes.fs@ig.com.br

[2-7]Graduando, Universidade Federal do Espírito Santo. Auto universitário, s/n, CEP 29 500-000 Alegre – ES

[8]Professor DS/FIT, Universidade Federal do Espírito Santo. Auto universitário, s/n, CEP 29 500-000 Alegre – ES e-mail: jata@terra.br

[9]Professor Orientador DS/FIT, Universidade Federal do Espírito Santo. Auto universitário, s/n, CEP 29 500-000 Alegre – ES e-mail: edilsonr@terra.br

Resumo- O presente trabalho teve como objetivo avaliara eficiência da descontaminação de *Laelia tenebrosa* Rolfe em solução de hipoclorito de sódio a 1%, em 4 variações de tempo, e foi desenvolvido para verificar qual o periodo ótimo de exposição a solução desifestante para se obter uma menor contaminação e que não prejudicasse o desenvolvimento das plantas. A medida que aumentou-se o tempo de exposição ao desinfetante houve uma melhor descontaminação no entanto houve uma menor quantidade de sementes germinadas mas que não apresentou diferença significativa entre os tratamentos para este parâmetro, um menor numero de plantas reduziu a competição por luz, nutrientes e espaço culminando com um maior crescimento das plantas dos tratamentos com maior tempo de exposição a solução desinfetante.

Palavras-chave:, *Solanun Hidroponia sessiliflorum* Dunal, Nutrição Mineral
Área do Conhecimento: Ciências Agrárias

Introdução

Por ser uma planta de rara beleza a orquídea *Laelia tenebrosa* tem sido retirada dos remanescentes florestais da mata atlântica sem nenhum critério ou estudo dos impactos ambientais. A exploração desta espécie fez com que ela quase desaparecesse de seu habitat natural levando-a a entrar na lista de espécies em perigo de extinsão conforme Portaria nº 37-N, de 3 de abril de 1992 divulgada pelo IBAMA. Além disso, a taxa de germinação de orquídeas é baixa ambiente natural.

A cultura assimbiótica ou semeadura *in vitro*, de orquídeas, constitui técnica bastante relevante do ponto de vista comercial e também ecológico e tem sido utilizada no Brasil, há pouco mais de 25 anos, para aumentar, principalmente, a produção e conseqüentemente, reduzir o seu custo. Além disso, tem contribuído para salvar muitas espécies de orquídeas da extinção [1]. As plantas produzidas desta forma são altamente interessantes para programas de reintrodução de espécies nativas em áreas de preservação ambiental. A cultura assimbiótica resulta em maiores percentuais de germinação, em comparação com a germinação em condições naturais, a qual é dependente da infecção por fungos micorrízicos, simbiontes muitas vezes espécie-específicos.

Por requerer condições especiais para a germinação e o desenvolvimento têm-se procurado desenvolver técnicas para a produção de mudas de *L. tenebrosa*. A cultura de tecidos é freqüentemente utilizada para a propagação clonal em massa de híbridos e espécies de orquídeas possibilitando a obtenção de plantas de alta qualidade fitossanitária em curto espaço de tempo [2].

As contaminações por fungos e bactérias podem causar perdas econômicas para o micropropagador, infestando o material vegetal (explante) ou infestando o meio de cultura [3], [4] observaram que em laboratórios da Alemanha, da Inglaterra e da Holanda, do total das contaminações, as perdas causadas por fungos foram de 10-35%. Em biofábricas brasileiras, segundo [5], já foram registradas porcentagens de contaminação superiores a 30%, causadas tanto por fungos como por bactérias, mesmo com todos os cuidados de assepsia.

O objetivo foi verificar a interferência da solução desinfetante sobre a germinação de orquídeas e os efeitos sobre o desenvolvimento das plantas.

Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo - CCA/UFES, situado em Alegre, no Sul do Estado do Espírito Santo (latitude 20^{o} 45'

Sul; longitude 41^{o} 48$^{'}$ Oeste; altitude 270 m).

Utilizou-se neste experimento uma cápsula madura de orquídea *Laelia tenebrosa* Rolfe, que foi lavada com detergente neutro e exaguada com água destilada após esta foi aberta no sentido de sua deiscência, usando uma pinça e bisturi de modo a dividir os três carpelos. As sementes foram retiradas da cápsula, em seguida foram separadas as sementes inviáveis pelo método da decantação.

A desinfestação da semente iniciou-se fora da câmara de fluxo laminar com a sua permanência por cinco minutos em solução de fungicida Metiltiofan (thiophanate metil) na concentração de 1g.L^{-1} sob agitação, em seguida as sementes foram passadas em álcool a 70% por 1 minuto e levadas para câmara de fluxo laminar em papel filtro, onde as sementes foram lavadas com água destilada autoclavada e logo após iniciou-se o tratamento com hipoclorito de sódio a 1%.

As sementes foram mantidas em solução de hipoclorito a 1% por 0, 10, 20, 30 minutos, que se constituiu no tratamento. Após as sementes foram enxaguadas e inoculadas frascos contendo meio de cultura de Murashige e Skoog [6], e levadas para sala de cultivo onde foram mantidos com temperatura de 25 $\pm$ 2 ºC, fotoperíodo de 16 horas com intensidade luminosa de 1,2 Klux fornecida por lâmpadas do tipo luz do dia, conforme [7].

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 4 tratamentos (4 variaçoes de tempo) e 4 repetições, sendo que foi utilizado um frasco por repetição.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de regressão, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa SAEG (Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas), UFV (1992).

Resultados e Discussão

Verificou-se neste trabalho que o tempo de exposição à solução de hipoclorito de sódio interferiu diretamente na contaminação e desenvolvimento das plântulas, como pode ser observado no resumo da análise de variância (tabela 1) houve pelo menos uma diferença significativa entre as diferentes doses de sacarose.

Tabela 1- Resumo da análise de variância do peso da matéria seca (M. S.) das plântulas de orquídea *Laelia tenebrosa* Rolfe em diferentes tempos de exposição ao hipoclorito de sódio.

Fonte de variação	G. L.	Q. M.	F
		M. F.	M. F.
Tempo	3	15,9389	5,20*
Resíduo	12	3,0659	
Total	15		

*significativo pelo teste de F a 5% de Probabilidade

A utilização de solução de hipoclorito de sódio a 1% demonstrou ser eficiente na descontaminação de sementes de *Laelia tenebrosa* Rolfe, para evitar a contaminação do meio de cultura. Verifica-se na Figura 01 que a medida que aumentou-se o tempo de exposição a solução aumento-se também o peso das plantas que foi influenciado por um menor número de plantas por frasco.

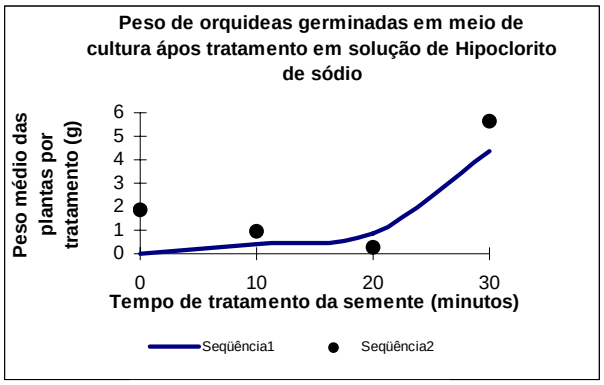

Figura 1 – Peso de Orquídeas Germinadas.

Conclusão

1 – O método de decantação é um ótimo método para separar sementes viáveis de sementes inviáveis em orquídea do gênero *Laelia*.

2 – A medida que aumenta-se o tempo de exposição ao hipoclorito reduz-se a contaminação.

3 – Em exposição prolongada ao hipoclorito muitas sementes morrem, fazendo com que seja reduzido o nº de plantas por frasco reduzindo a competição, o que faz com que as plantas se desenvolvam mais.

Referências

[1] STANCATO, G. C. *et al*. Produção de mudas de orquídeas a partir de sementes *in vitro* e sua viabilida de econômica: estuda de caso. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.7, n.1, p.25-33, 2001.

[2] ARDITTI, J.: ERNEST, R. Micropropagation of orchids. New York: J. Wiley, 1993. 682 p.

[3] LONG, R. D. *et al*. An investigation of the effects of bacterial contaminants on potato nodal culture. **Acta Horticult**., The Hague, n. 225, p.83-92, 1988.

[4] LEIFERT, C. *et al*. Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue culture and field grown plants; reasons for contamination problems *in vitro.* **Crit. Rev. Plant Sci**., Boca Raton, v.13, n.2, p.139-183, 1994.

[5] OLIVEIRA, de R. P. *et al*. Efeito da desinfestação e do uso micropropagação de bananeira. **Rev. Bras. Fruticult**., Jaboticabal, v.22, n.1, p.57-61, 2000.

[6] MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant**., Copenhagem, v.15, p. 473-479, 1962.

[7] SCHMILDT (1994 SCHMILDT, E.R. Enraizamento “in vitro” e “ex vitro” de ramos de mamoeiro (Carica papaya L.). Viçosa, MG: UFV, 1994. 76p. (Tese de Mestrado).

[8] UNIVESIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **Sistema de Análise Estatísticas e Genéticas-SAEG**. Viçosa, MG: 1992 (Versão 5.0).