

CRESCIMENTO DE ORQUÍDEAS EPÍFITAS *IN VITRO*: ADIÇÃO DE POLPA DE FRUTOS⁽¹⁾

GIULIO CESARE STANCATO ⁽²⁾; MÔNICA FERREIRA ABREU ⁽³⁾;
ÂNGELA MARIA CANGIANI FURLANI ⁽³⁾

RESUMO

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de estudar o efeito das polpas de frutas no crescimento de plântulas de orquídeas *in vitro*. Três espécies de orquídeas epífitas brasileiras foram usadas: *Laelia longipes* Rchb.f., *Laelia tenebrosa* Rolfe e *Miltonia spectabilis* (Lindley). Os seguintes meios nutritivos foram testados: 10:10:10 (N:P:K), na concentração de 1 g L⁻¹, 10:30:20, 1 g L⁻¹, polpa de maçã, 10,0 g L⁻¹, polpa de tomate, 10 g L⁻¹, polpa de banana, 50 g L⁻¹, e também os meios de KNUDSON, VACIN e WENT, MURASHIGE e SKOOG. Nas plântulas de *L. longipes*, cultivadas em 10:10:10 e polpa de banana observou-se o maior acúmulo de, massa e naquelas cultivadas em MS o menor. Pela análise dos resultados para *Miltonia spectabilis* observou-se que os meios 10:30:20 e polpa de banana proporcionaram o maior acúmulo de massa seca e no meio MS, o menor acúmulo. Em ordem decrescente de acúmulo de matéria seca total estão os meios 10:30:20 e polpa de banana, seguidos por 10:10:10, polpa de tomate, KNUDSON (58,3%), VACIN e WENT (18,7%), polpa de maçã (13,2%) e MS (4,1%). Para *Laelia tenebrosa*, as plântulas cultivadas no meio polpa de banana incorporaram o maior conteúdo de matéria seca, seguidas pelas plântulas cultivadas em meio com 10:10:10. Os outros meios propiciaram acúmulo reduzido.

Palavras-chave: meios nutritivos; micropropagação; nutrição *in vitro*.

ABSTRACT

THE PULPS OF FRUITS IN THE GROWTH OF EPIPHYTIC ORCHIDS

This work was carried out with the aim of studying the effect of pulp of fruits on the growth of orchids seedlings *in vitro*. Three species of epiphytic brazilian orchids were used: *Laelia longipes* Rchb.f., *Laelia tenebrosa* Rolfe e *Miltonia spectabilis* (Lindley). The following nutritive media were tested: 10:10:10 (N:P:K), at 1 g L⁻¹, 10:30:20 at 1 g L⁻¹, apple pulp, at 10 g L⁻¹, tomato pulp at 10 g L⁻¹, banana pulp at 50 g L⁻¹, and also the KNUDSON, VACIN and WENT, MURASHIGE and SKOOG (MS) media. In seedlings of *L. Longipes* cultivated in 10:10:10 and banana pulp was observed higher accumulation, and the lowest one in MS. Analysis of dry mass results for *Miltonia spectabilis* showed that the media 10:30:20 and banana pulp propiciated the highest dry mass accumulation and the MS medium, the lowest. In decreasing order of total dry mass accumulation are the media 10:30:20 and banana pulp, followed by 10:10:10, tomato pulp, KNUDSON (58,3%), VACIN e WENT (18,7%), apple pulp (13,2%) and MS (4,1%). For *Laelia tenebrosa*, seedlings cultivated in banana pulp incorporated higher dry mass content, followed by those cultivated in 10:10:10, whereas the remaining media propitiated reduced accumulation.

Key words: orchids micropropagation; nutritive media; *in vitro* nutrition.

⁽¹⁾ Recebido para publicação em 31 de maio de 2006 e aceito em 20 de agosto de 2007.

⁽²⁾ Instituto Agrônomo, Centro de Horticultura, Caixa Postal 28, 13012-970 Campinas (SP). E-mail: stancato@iac.sp.gov.br.

(*) Autor correspondente.

⁽³⁾ Centro de Solos e Recursos Agroambientais, Instituto Agrônomo, Campinas (SP).

1. INTRODUÇÃO

Os meios nutritivos empregados na cultura de tecidos vegetais foram estabelecidos a partir das exigências das plantas inteiras, com modificações para atender às necessidades específicas *in vitro* (CALDAS et al., 1998). Assim, vários compostos são adicionados para suprir as necessidades metabólicas, energéticas e estruturais da célula, uma vez que as mesmas vias bioquímicas básicas que operam nas plantas são mantidas nos tecidos cultivados *in vitro*. A maioria dos meios nutritivos é composta por macro e micronutrientes minerais, vitaminas, açúcares, reguladores vegetais e suplementos orgânicos (GAMBORG, 1984; KNUDSON, 1946; MURASHIGE e SKOOG, 1962; VACIN e WENT, 1949; WHITE, 1951); o emprego dessas substâncias permite a reprodutibilidade dos meios, tendo em vista que as constituições químicas são conhecidas e suas concentrações podem ser previamente determinadas.

Porém, no cultivo de orquídeas *in vitro* existem vários relatos da utilização de polpas de frutas na formulação de meios nutritivos, incluindo a água de coco (ARDITTI, 1992; VACIN e WENT, 1949) e a polpa de banana (WITHNER, 1974). Neste contexto, o emprego desses compostos proporciona melhora no desenvolvimento de plântulas, permitindo maior vigor e crescimento durante essa fase (REINERT e MOHR, 1967). O que se sabe sobre esses compostos é que são ricos em fibras, ácidos graxos, compostos nitrogenados, sais minerais, vitaminas, ácidos orgânicos, açúcares, reguladores vegetais e demais substâncias (WATT e MERRILL, 1963). Em decorrência, a sua ação é de difícil previsão já que muitos fatores estariam envolvidos na sua determinação.

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da adição das polpas de frutas no crescimento de plântulas de orquídeas *in vitro*, durante a fase de micropropagação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho foram empregadas três espécies de orquídeas epífitas brasileiras: *Laelia longipes* Rchb.f., *Laelia tenebrosa* Rolfe e *Miltonia spectabilis* (Lindley). No início, as plântulas estavam com 3-4 folhas e massa seca média de 0,82, 0,37 e 1,09 mg respectivamente. A fase experimental teve a duração de um ano, sendo as plântulas cultivadas em frascos de vidro, com quatro repicagens sucessivas de três meses de duração cada uma. À medida que as plântulas foram crescendo, a densidade no frasco foi variando de 30, 15, 10 e 5 plântulas. Durante o período de incubação, em sala

de cultivo, os frascos foram mantidos em prateleiras de aço sob condições parcialmente controladas de temperatura (21-24 °C) e luz fotossinteticamente ativa ($40 \mu\text{M}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), sendo o fotoperíodo de 16 horas.

Foram testados os meios nutritivos 10:10:10 (N:P:K), na concentração de 1 gL^{-1} ; 10:30:20, 1 gL^{-1} ; polpa de maçã, 10 gL^{-1} ; polpa de tomate, 10 gL^{-1} ; polpa de banana, 50 gL^{-1} ; e também os meios de acordo com os trabalhos de KNUDSON (1946), VACIN e WENT (1949) e MURASHIGE e SKOOG (1962), cuja composição mineral inicial foi determinada por ICP-OES para cada nutriente e estão apresentadas na tabela 1. Em todos os meios foram acrescidos 2% de sacarose, 0,9% de ágar, e o pH corrigido para 5,8. Os frascos contendo 50 mL dos meios nutritivos foram esterilizados por autoclavagem a 121°C (104kPa) durante 20 minutos.

Para cada orquídea estudada, o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com oito tratamentos, cinco repetições e amostragens no início e no fim do experimento; foram considerados cada meio nutritivo um tratamento e cada plântula uma repetição. Os testes de significância empregados foram os testes F e o de Tukey a 5%, sendo avaliados em plântulas os seguintes parâmetros: matéria seca total, matéria seca da parte aérea, matéria seca das raízes e relação parte aérea/raízes (PA / raízes). Nos meios de cultura, foram analisados os teores de macro e micronutrientes minerais em alíquotas retiradas no início e no fim do experimento.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Laelia longipes

Os valores da matéria seca acumulada e a relação PA / raízes, em plântulas de *L. longipes*, são apresentados nas tabelas 2 e 3. Em relação à matéria seca total, as plântulas cultivadas nos meios 10:10:10 e com polpa de banana obtiveram maior acúmulo e as cultivadas no meio MS tiveram o menor, correspondendo a 24,2% do meio 10:10:10 e 25,8% do meio com polpa de banana. Nos demais meios de cultura, as plântulas tiveram valores intermediários. Além disso, considerando o acúmulo de matéria seca na parte aérea, na análise dos resultados, observa-se que as plântulas cultivadas em meio com polpa de banana tiveram o maior acúmulo, e as plântulas cultivadas em meio com polpa de maçã obtiveram o menor, correspondendo a 6,5% das primeiras.

Em relação às raízes, o maior acúmulo de matéria seca foi verificado em plântulas cultivadas no meio 10:10:10, cujos valores alcançados, quando comparados aos obtidos pelas plântulas cultivadas

nos demais meios nutritivos, são bem superiores, representando cerca de 215% a mais do que o segundo maior acúmulo, no meio 10:30:20, e em torno de 1.000% em relação ao menor acúmulo de matéria seca nas raízes, ou seja, plântulas cultivadas em meio MS. Nos demais tratamentos, em ordem decrescente, as plântulas obtiveram valores intermediários, a saber: polpa de tomate, KNUDSON, polpa de maçã, polpa de banana e VACIN e WENT.

Quanto à relação PA/raízes, indicativo do particionamento da matéria seca entre os órgãos, a análise dos resultados mostra que nas plântulas cultivadas nos meios 10:10:10, polpa de maçã e KNUDSON, os valores foram menores do que um, ou seja, houve maior acúmulo de matéria seca nas raízes. Ao contrário, um incremento na matéria seca da parte aérea foi observado nas plântulas cultivadas nos meios com polpa de banana, MS, polpa de tomate, 10:30:20 e VACIN e WENT.

Miltonia spectabilis

Na tabela 4, são apresentados os valores da matéria seca acumulada em plântulas de *M. spectabilis*, bem como os valores da relação PA/raízes. Verifica-se que o maior acúmulo de matéria seca da parte aérea ocorreu em plântulas cultivadas em meio nutritivo contendo polpa de banana, seguido pelos tratamentos polpa de tomate, 10:30:20, 10:10:10, KNUDSON, VACIN e WENT, polpa de maçã e MS, que correspondem a 83,7%; 77,1%; 66,4%; 59,3%; 22,8%; 10,6%; 4,8%, comparativamente ao primeiro. Com relação à matéria seca das raízes, plântulas cultivadas em meio nutritivo com 10:30:20 foram as que mais acumularam; os demais tratamentos, ou seja, 10:10:10, polpa de banana, KNUDSON, polpa de tomate, polpa de maçã, VACIN e WENT e MS, resultaram em valores percentuais comparativos ao primeiro tratamento em: 93,4%; 78,4%; 46,1%; 27,5%; 12,6%, 11,9%, 2,7% respectivamente (Tabela 5).

Tabela 1. Concentração inicial em mg L⁻¹ dos meios nutritivos empregados no crescimento de plântulas de *Laelia longipes*, *Miltonia spectabilis* e *Laelia tenebrosa* (Orchidaceae), em quatro repicagens sucessivas de três meses cada uma. (n=5)

Análises	10:10:10	10:30:20	Polpa			Knudson	V e W	MS
			Maçã	Tomate	Banana			
P	59,0	186,4	0,52	9,25	9,04	61,48	72,55	364,0
K	48,0	147,7	71,4	142,9	265,4	159,4	632,8	525,6
Ca	37,68	12,28	24,2	19,59	30,2	51,67	63,12	90,63
Mg	30,02	12,26	8,59	7,53	14,26	18,05	36,71	27,27
S	167,77	66,27	55,34	52,26	56,48	396,72	385,39	111,43
Fe	0,4	0,65	0,7	0,72	0,71	0,9	2,74	5,35
Mn	0,83	0,15	0,98	0,91	2,53	2,61	5,71	0,1
Zn	0,2	0,32	0,18	0	0,3	0,4	0,3	1,2
Na	74,9	103,0	98,3	145,2	121,8	215,4	173,3	173,4

Tabela 2. Acúmulo de matéria seca e relação alométrica após quatro cultivos sucessivos de três meses, em plântulas de um ano de *Laelia longipes* (Orchidaceae), quando crescidas em diferentes meios nutritivos, *in vitro*. Os valores de matéria seca são dados para a parte aérea (P.A.), raízes e total (n = 5)

Tratamentos	Matéria seca (¹)			P.A./Raízes
	P.A. (²)	Raízes (²)	Total (²)	
	mg / plântula			
10:10:10 (N:P:K)	10,71 c	31,61 a	42,32 a	0,34
10:30:20 (N:P:K)	23,60 b	14,66 b	38,26 b	1,61
Polpa de maçã	2,05 f	10,07 e	12,12 e	0,20
Polpa de tomate	23,54 b	12,68 c	36,22 b	1,86
Polpa de banana	31,39 a	9,16 ef	40,55 a	3,43
Knudson	9,48 d	11,38 d	20,86 c	0,83
V & W	10,32 cd	8,49 f	18,81 d	1,21
MS	7,20 e	3,05 g	10,25 f	2,36

(¹) Teste F (P.A.)= 1588,86; teste F (Raízes)= 941,78; teste F (Total)= 1318,86. Análise de variância com valores transformados (\sqrt{x}).

(²) Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 3. Composição mineral e análise química (mg.L⁻¹) dos meios nutritivos empregados no crescimento de plântulas de *Laelia longipes* (Orchidaceae), após um ano de cultivo *in vitro*, em quatro repicagens sucessivas de três meses cada uma. (n= 5)

Análises	10:10:10	10:30:20	Polpa			Knudson	V e W	MS
			Maçã	Tomate	Banana			
P	4,0	15,0	<0,1*	5,0	<0,1	11,0	3,0	<0,1
K	5,0	13,0	2,0	7,4	10,0	16,0	27,0	32,0
Ca	3,0	4,0	3,0	4,0	3,0	17,0	5,0	7,0
Mg	0,5	0,5	0,5	1,0	0,5	5,0	1,5	1,5
S	2,0	2,0	2,0	4,0	5,0	56,0	23,0	12
Fe	0,2	0,3	0,5	0,6	0,4	0,8	0,5	0,7
Mn	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,3	1,0	<0,1
Zn	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,3	0,2	0,2
Na	2,0	2,0	2,0	3,0	2,0	5,0	4,0	4,0
pH	4,2	4,2	5,2	5,8	5,0	3,9	4,8	4,5
CE	72	160	34	280	52	360	190	288

* Valores abaixo do limite de detecção.

Tabela 4. Acúmulo de matéria seca e relação alométrica após quatro cultivos sucessivos de três meses, em plântulas de um ano de *Miltônia spectabilis* (Orchidaceae), quando crescidas em diferentes meios nutritivos, *in vitro*. Os valores de matéria seca são dados para a parte aérea (P.A.), raízes e total (n = 5)

Tratamentos	Matéria Seca ⁽¹⁾			P.A./Raízes
	P.A. ⁽²⁾	Raízes ⁽²⁾	Total ⁽²⁾	
	mg / plântula			
10:10:10 (N:P:K)	24,42d	43,61b	68,03b	0,56
10:30:20 (N:P:K)	28,37c	46,69a	75,06a	0,61
Polpa de maçã	3,92g	5,88f	9,80e	0,67
Polpa de tomate	30,77b	12,85e	43,62c	2,39
Polpa de banana	36,79 ^a	36,62c	73,41a	1,01
Knudson	21,81e	21,51d	43,32c	1,01
V & W	8,34f	5,56f	13,92d	1,50
MS	1,76h	1,26g	3,02f	1,40

⁽¹⁾ Teste F (P.A.)= 2542,66; teste F (Raízes)= 3504,13; teste F (Total)= 5119,91. Análise de variância com valores transformados (\sqrt{x}).

⁽²⁾ Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 5. Composição mineral e análise química (mg.L⁻¹) dos meios nutritivos empregados no crescimento de plântulas de *Miltonia spectabilis* (Orchidaceae), após um ano de cultivo *in vitro*, em quatro repicagens sucessivas de três meses cada uma. (n= 5)

Análises	10:10:10	10:30:20	Polpa			Knudson	V e W	MS
			Maçã	Tomate	Banana			
P	4,0	12,0	<0,1*	3,0	<0,1	<0,1	3,0	4,0
K	10,0	14,0	4,0	8,0	11,0	32,0	27,0	6,0
Ca	4,0	4,0	2,0	3,0	3,0	6,0	4,0	7,0
Mg	0,5	0,5	0,5	1,0	0,5	1,0	1,0	2,0
S	4,0	3,0	3,0	8,0	3,0	9,0	12,0	14,0
Fe	0,2	0,1	<0,1	0,6	0,3	0,5	0,3	0,4
Mn	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	1,0	0,1
Zn	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2
Na	2,0	2,0	3,0	3,0	2,0	4,0	4,0	2,0
pH	4,5	4,7	6,1	6,6	5,7	4,3	4,9	4,4
CE	67	142	37	274	60	295	210	140

* Valores abaixo do limite de detecção.

Considerando a matéria seca total por plântula, a análise dos resultados revela que os meios nutritivos 10:30:20 e com polpa de banana proporcionaram o maior acúmulo e o meio MS, o menor. Em ordem decrescente de acúmulo de matéria seca total estão os meios 10:30:20 e polpa de banana, seguidos por 10:10:10 (91,6%), polpa de tomate (58,8%) e KNUDSON (58,3%), VACIN e WENT (18,7%), polpa de maçã (13,2%) e MS (4,1%).

Os valores obtidos para a relação PA/raízes mostram, nas plântulas de *M. spectabilis* cultivadas nos meios nutritivos com polpa de banana e KNUDSON, acúmulos iguais de matéria seca na parte aérea e nas raízes, e nos meios nutritivos 10:10:10, 10:30:20 e polpa de maçã ocorreram, proporcionalmente, maiores acúmulos nas raízes e menores na parte aérea. O oposto foi observado nos meios com polpa de tomate, VACIN e WENT e MS, nos quais ocorreram acúmulos relativos maiores na parte aérea, principalmente das plântulas cultivadas em meio com polpa de tomate.

Laelia tenebrosa

Os valores obtidos para o acúmulo de matéria seca e relação PA/raízes são mostrados na tabela 6. Os valores de análise química, bem como a composição mineral são apresentados na tabela 7. Nas plântulas cultivadas em meio nutritivo com 10:10:10 ocorreu o maior acúmulo na parte aérea, enquanto as plântulas cultivadas em meio com 10:30:20, polpa de tomate ou MS foram as que menos

matéria seca acumularam na parte aérea. É interessante notar que o segundo maior acúmulo na parte aérea, ou seja, plântulas cultivadas em meio com polpa de banana, correspondem a 53,6% do primeiro. Em relação ao observado nas raízes, plântulas cultivadas em meio com polpa de banana obtiveram maiores acúmulos; já as plântulas cultivadas em meio com 10:30:20 ou polpa de tomate foram as que menos cresceram. Diferentemente do que ocorreu na parte aérea, plântulas cultivadas em meio com 10:10:10 tiveram o segundo maior acúmulo nas raízes, correspondendo a 13,8% em relação ao primeiro.

Considerando a matéria seca total, as plântulas cultivadas em meio com polpa de banana incorporaram maior quantidade de matéria seca, sendo seguidas pelas plântulas cultivadas em meio com 10:10:10, que acumularam 38,7% em relação às primeiras. Nos demais meios nutritivos, o acúmulo verificado foi reduzido, representando nos meios 10:30:20, polpa de tomate e MS, 2,75% da matéria seca acumulada em plântulas no meio com polpa de banana.

Os valores da relação PA/raízes mostram que nos meios nutritivos com polpa de maçã, VACIN e WENT, principalmente, com polpa de banana, o particionamento da matéria seca na plântula favoreceu o maior acúmulo de matéria seca nas raízes, enquanto os meios KNUDSON, polpa de tomate, 10:30:20 e 10:10:10 proporcionaram maior acúmulo na parte aérea. As plântulas cultivadas em meio MS tiveram um dos menores acúmulos na matéria seca total, porém, com igual distribuição entre parte aérea e raízes.

Tabela 6. Acúmulo de matéria seca e relação alométrica após quatro cultivos sucessivos de três meses, em plântulas de um ano de *Laelia tenebrosa* (Orchidaceae), quando crescidas em diferentes meios nutritivos, *in vitro*. Os valores de matéria seca são dados para a parte aérea (P.A.), raízes e total (n = 5)

Tratamentos	Matéria Seca ⁽¹⁾			P.A./Raízes
	P.A. ⁽²⁾	Raízes ⁽²⁾	Total ⁽²⁾	
	mg / plântula			
10:10:10 (N:P:K)	26,70 a	11,69 b	38,39 b	2,28
10:30:20 (N:P:K)	1,75 e	1,05 f	2,80 f	1,67
Polpa de maçã	3,87 d	4,50 d	8,37 e	0,86
Polpa de tomate	1,50 e	1,00 f	2,50 f	1,50
Polpa de banana	14,32 b	84,93 a	99,25 a	0,17
Knudson	12,17 c	8,29 c	20,46 c	1,47
V & W	4,34 d	8,18 c	12,65 d	0,53
MS	1,45 e	1,43 e	2,88 f	1,01

⁽¹⁾ Teste F (P.A.)= 1185,18; teste F (Raízes)= 5900,11; teste F (Total)= 4778,57. Análise de variância com valores transformados (\sqrt{x}).

⁽²⁾ Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 7. Composição mineral e análise química (mg.L⁻¹) dos meios nutritivos empregados no crescimento de plântulas de *Laelia tenebrosa* (Orchidaceae), após um ano de cultivo *in vitro*, em quatro repicagens sucessivas de três meses cada uma. (n=5)

Análises	10:10:10	10:30:20	Polpa			Knudson	V e W	MS
			Maçã	Tomate	Banana			
P	6,0	10,0	<0,1*	6,0	<0,1	3,0	1,0	<0,1
K	7,0	12,0	5,0	12,0	9,0	4,0	19,0	18,0
Ca	3,0	3,0	3,0	3,0	2,0	8,0	3,0	3,0
Mg	0,5	0,5	0,5	1,5	0,5	1,0	1,0	1,0
S	3,0	1,0	2,0	6,0	2,0	10,0	11,0	5,0
Fe	0,3	0,2	<0,1	0,7	0,4	0,5	0,5	0,7
Mn	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,6	<0,1
Zn	0,2	0,1	0,2	0,3	0,1	0,2	0,2	0,3
Na	2,0	2,0	3,0	3,0	1,0	2,0	3,0	3,0
pH	4,3	5,0	6,0	6,4	554,8	4,6	4,9	4,6
CE	86	138	46	405	55	134	158	168

* Valores abaixo do limite de detecção.

Deve ser lembrado que a família Orchidaceae é, provavelmente, a maior família botânica entre as Angiospermas, englobando espécies vegetais distintas e as três orquídeas estudadas possuem características fenotípicas singulares e ocorrem em diferentes habitats. Em decorrência, existe uma infinidade de meios nutritivos que são empregados e recomendados para a micropropagação de diferentes grupos de orquídeas (VILLALOBOS et al., 1991), sendo enfatizada a adição de misturas complexas (CALDAS et al., 1998), principalmente polpa de alguns frutos.

De acordo com WATT e MERRILL (1963), análises químicas revelam a presença de cálcio, fósforo, ferro, potássio, vitamina A, tiamina, riboflavina, niacina e ácido ascórbico na polpa de banana, maçã e tomate, porém, em diferentes concentrações; em geral, a polpa de maçã não tem vitamina A, a polpa de banana possui altos teores de potássio e fósforo e a polpa de tomate exhibe alta concentração de sódio, vitamina A e de potássio. Nesse trabalho, os meios continham exclusivamente polpa de banana, polpa de maçã ou polpa de tomate, mais a sacarose, sem a complementação com sais minerais, vitaminas ou quaisquer outros tipos de substâncias, como ocorreu com os meios KNUDSON, VACIN e WENT e MS. Igualmente, nos meios com 10:10:10 ou 10:30:20 havia somente sacarose.

De acordo com ARDITTI (1968 e 1992), CALDAS et al. (1998) e VALMAYOR e PRICE (1970), entre outros, experimentos desenvolvidos *in vitro* têm demonstrado que a polpa da banana é o melhor suplemento para a diferenciação de órgãos e promotor do crescimento de raízes e folhas; além

disso, em algumas espécies de orquídeas epífitas, o crescimento das raízes foi superior ao crescimento da parte aérea, como verificado neste trabalho para a espécie *L. tenebrosa*. Também, é possível que os meios nutritivos 10:10:10 e 10:30:20 tenham proporcionado maior crescimento devido às baixas concentrações de sais minerais, reforçando dados da literatura (ARDITTI, 1992; KNUDSON, 1946), que demonstram a baixa demanda por nutrientes minerais que as orquídeas exibem.

Por sua vez, o meio com polpa de tomate favoreceu o acúmulo de matéria seca total em plântulas de *L. longipes* e *M. spectabilis*, principalmente na parte aérea, mas prejudicou o crescimento de plântulas de *L. tenebrosa*. Porém, de acordo com ARDITTI (1982 e 1992), HOSHI et al. (1994) e RAMOS (1969), o uso da polpa de tomate em adição com vitaminas e sais minerais estimula a germinação e o crescimento *in vitro* de espécies de orquídeas epífitas e terrestres. Da mesma maneira, a inclusão da polpa de maçã no meio de cultura melhorou a germinação e o crescimento de plântulas micropropagadas. Em experimentos realizados por ARDITTI (1992); BUTCHER e MARLOW (1989), notou-se incremento de matéria seca em plântulas de orquídeas epífitas dos gêneros *Dendrobium*, *Phalaenopsis* e *Vanda*, quando cultivadas em meio nutritivo suplementado com a polpa de maçã. No presente trabalho, por razões que necessitam estudos mais detalhados, o meio nutritivo contendo polpa de maçã prejudicou o crescimento das plântulas, proporcionando um dos menores acúmulos de matéria seca, favorecendo mais o crescimento das raízes que da parte aérea.

Os meios KNUDSON e VACIN e WENT são mundialmente conhecidos, sendo empregados para a micropropagação de orquídeas epífitas e terrestres. Proporcionam crescimento vigoroso às plântulas da maioria das espécies de orquídeas e são compostos por macro e micronutrientes minerais em baixas concentrações, principalmente quando comparadas às concentrações do meio MURASHIGE e SKOOG (1962). Porém, os meios nutritivos com polpa de banana, 10:10:10 e 10:30:20 foram os que proporcionaram maior crescimento, sendo as plântulas cultivadas com polpa de banana aquelas com maior acúmulo de matéria seca total, para as três espécies estudadas. Esses dados reforçam a hipótese de que espécies de orquídeas cultivadas *in vitro* necessitam da baixa concentração dos sais minerais no meio de cultura, uma vez que vivem em ambientes com baixa disponibilidade de nutrientes.

Para os tratamentos com polpa de banana, 10:10:10 e 10:30:20, é provável que nessas condições a fonte de açúcar tenha efetivamente contribuído para o incremento de matéria seca das plântulas cultivadas nesses meios, já que foram acrescidos 2% de sacarose, a principal fonte de esqueletos de carbono. Como na prática a polpa de fruto está associada aos meios KNUDSON e VACIN e WENT, seria correto afirmar que o crescimento alcançado pelas plântulas cultivadas nos meios contendo somente a polpa de fruto tenha sido menor, principalmente tomate ou maçã, devido à interação sinérgica ou à ação complementar, que fornecem condições mais adequadas para o rápido incremento da matéria seca.

REFERÊNCIAS

- ARDITTI, J. Germination and growth of orchids on banana fruit tissue and some of its extracts. **American Orchid Society Bulletin**, West Palm Beach, v. 37, p. 112-116, 1968.
- ARDITTI, J. Orchid seed germination and seedling culture : A manual. In: Arditti, J. (Ed.), **Orchid biology: Reviews and perspectives**. Ithaca: Comstock Publishing Associates, 1982, v. 2, p. 244-370.
- CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P. ; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: Torres, A.C.; Caldas L.S.; Buso J.A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1998, v. 1, p. 87-132.
- GAMBORG, O. Plant cell cultures: nutrition and media. In: Vasil I.K. (Ed.). **Cell culture and somatic cell genetics of plants**, New York, Academic Press, 1984. v. 1, p. 18-26.
- HOSHI, Y.; KONDO, K.; HAMATAMI, S. *In vitro* germination of four Asiatic taxa of *Cypripedium* and notes on the nodal micropropagation of American *Cypripedium montanum*. **Lindleyana**, West Palm Beach, v.9, p. 93-97, 1994.
- KNUDSON, L. A new nutrient solution for germination of orchid seed. **American Orchid Society Bulletin**, West Palm Beach, v. 15, p. 214-217, 1946.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.
- RAMOS, M.S.S. O uso do tomate nos meios de cultura. In: _____. **A orquídea e a sua reprodução pela semente**. São Paulo: Saraiva, 1969. p. 47-52.
- REINNERT, R.A.; MOHR, H.C. Propagation of *Cattleya* by tissue culture of lateral bud meristems. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 91, p. 664-671, 1967.
- VALMAYOR, H.L.; PRICE, G.R. Banana fruit pulp: a good medium for growing orchids. **Agriculture at Los Banos**, Los Banos, v. 9 n4, p. 142-152, 1970.
- VACIN, E.F.; WENT, F.W. Some pH changes in nutrient solutions. **Botanical Gazette**, Cambridge, v. 110, p. 605-613, 1949.
- VILLALOBOS, U.M.; FERREIRA, P.; MORA, A. The use of biotechnology in the conservation of tropical germoplasm. **Biotechnology Advances**, Cambridge, v. 9, p. 197-215, 1991.
- WATT, B.K.; MERRILL, A.L. **Composition of foods**. Washington, DC: USDA, 1963. 129p. (Agriculture Handbook n.8.)
- WHITE, P.R. Nutritional requirements of isolated plant tissues and organs. **Annual Review of Plant Physiology**, Cambridge, v. 2, p. 231-244, 1951.
- WITHNER, C.L. **The orchids: a scientific study**. Nova Iorque: Wiley-Interscience, John Wiley & Sons, 1974. 451p.