

ET-09-006 - Biologia Aplicada

**MORFOMETRIA DE SEMENTES E EFEITO DA TEMPERATURA NO  
DESENVOLVIMENTO *in vitro* DE *Brassavola martiana* L.  
(ORCHIDACEAE)**

Barbara Schirato Gonçalves<sup>1</sup>, Wagner de Melo Ferreira<sup>2</sup>, Laís Ramos Alves<sup>3</sup>,  
Jaderson Roney Gomes de Oliveira<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Aluna do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Tocantins, *Campus* de Porto Nacional, Bolsista no Programa PIBIC, Tocantins.

<sup>2</sup>Orientador do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Tocantins, *Campus* de Porto Nacional, Orientador no Programa PIBIC, Tocantins.

<sup>3</sup>Pesquisadora do Núcleo de Estudos Ambientais da Universidade Federal do Tocantins, *Campus* de Porto Nacional, Co-Orientadora no Programa PIBIC, Tocantins.

<sup>4</sup>Pesquisador do Núcleo de Estudos Ambientais da Universidade Federal do Tocantins, *Campus* de Porto Nacional, Tocantins

**RESUMO**

A Família Orchidaceae é a maior e mais diversificada dentre as angiospermas, além de apresentar relevante importância botânica e econômica nesse grupo, principalmente devido às suas características morfológicas, ecológicas e ornamentais. *Brassavola martiana* é uma espécie de orquídea epifítica com alto potencial ornamental e comercial, o que torna importante o estudo de sua propagação através de técnicas *in vitro*. O objetivo do presente trabalho foi estudar a biometria das sementes de *B. martiana* bem como os efeitos de diferentes temperaturas no seu desenvolvimento *in vitro*. Nos estudos biométricos medidas referentes ao comprimento e largura de 100 sementes foram tomadas através do programa Anati Quanti versão 2.0 para Windows. Para o estudo referente à influência da temperatura plantas de *B. martiana* sem raízes ( $3,0 \pm 1,0$  cm de comprimento) oriundas de cultivo *in vitro* foram mantidas durante 120 dias em câmaras de crescimento com temperaturas ajustadas para 25, 30 e 35°C. Os resultados referentes à biometria revelaram que sementes desta espécie apresentaram uma grande variação em suas dimensões com médias de 212,67  $\mu$ m comprimento e 52,33  $\mu$ m de largura. Quanto à temperatura observou-se que 25°C foi a temperatura mais adequada para o desenvolvimento *in vitro* de *B. martiana*. (CNPq/UFT).

**Palavras-chave:** Biometria; Temperatura; Orchidaceae.

**INTRODUÇÃO**

A Família Orchidaceae é considerada a maior e mais diversificada dentre as angiospermas (VENTURA, 2007). Em ambiente natural, as orquídeas necessitam de associações simbióticas com fungos micorrízicos para que ocorra a germinação, pois suas sementes são extremamente pequenas e possuem pouca reserva. O mesmo autor ressalta que a propagação *in vitro* tem sido um dos métodos mais conhecidos e utilizados na multiplicação de espécies da família Orchidaceae.

Segundo Swamy et al. (2004) foram propostos vários esquemas de classificação para orquídeas baseados em características micro morfológicas convencionais, sendo que a morfologia da semente também serve como recurso para estudos envolvendo sistemática e filogenética. Muitas pesquisas realizadas com orquídeas sugerem que a variação em características como o tamanho da semente, seu formato e sua cor tem servido de marcadores taxonômicos e/ou filogenéticos. Características biométricas de sementes também podem afetar

importantes aspectos biológicos e ecológicos como, por exemplo, os mecanismos de dispersão das espécies. (ALOMÍA et al., 2016).

Após a germinação alguns fatores ambientais afetam o desenvolvimento de plantas *in vitro*, dentre eles a temperatura. A temperatura é um fator crítico para o desenvolvimento dos vegetais, pois controla reações metabólicas celulares e, assim, exerce influência significativa nas atividades fisiológicas das plantas tanto em ambientes naturais quanto sob condições *in vitro*. Nesse sentido, trabalhos científicos têm abordado os efeitos de diferentes temperaturas no desenvolvimento de espécies cultivadas por meio das técnicas *in vitro* (NIEVOLA et al., 2005; JOHNSON; KANE, 2012).

No Estado do Tocantins, grandes empreendimentos hidroelétricos, estão alterando fortemente os habitats naturais de plantas epifíticas, o que põe em risco várias espécies de orquídeas nativas. Por essas razões, a capacidade de produzir plantas de orquídeas em grandes quantidades poderia garantir que essas espécies ocupem um lugar no futuro, evitando assim sua extinção. Dentre as várias espécies que ocorrem naturalmente em áreas de Cerrado, *Brassavola martiana* L. foi a espécie selecionada para o presente estudo. É encontrada em florestas ciliares ou de galeria, florestas de igapó e de várzea e na savana amazônica (BARROS et al., 2018). Devido à beleza de suas flores, essa espécie apresenta alto potencial ornamental e comercial. Não existem registros na literatura sobre sua ocorrência no Tocantins, porém a espécie utilizada no presente estudo foi coletada no Estado, nos municípios de Lagoa da Confusão e Ipueiras, de acordo com os registros no Herbário do Tocantins (nº 7338 e nº 8986).

## OBJETIVOS

Estudar aspectos relacionados com a biometria das sementes de *Brassavola martiana* bem como os efeitos de diferentes temperaturas no seu desenvolvimento *in vitro*.

## METODOLOGIA

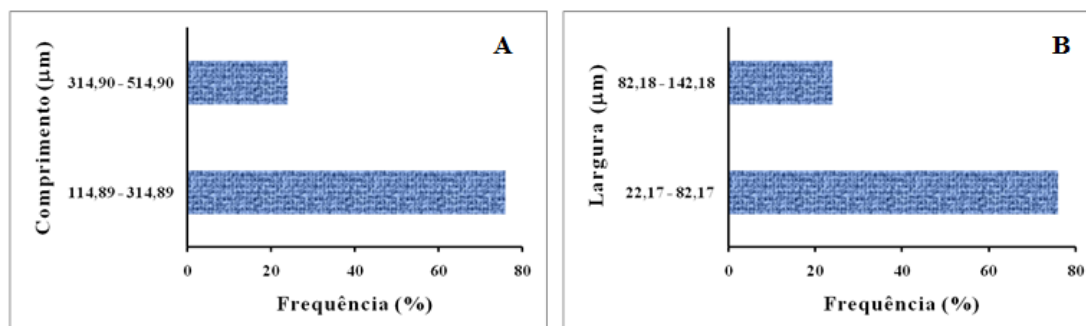
Para os estudos biométricos foram utilizadas sementes provenientes de três frutos. A metodologia consistiu na obtenção de fotos a partir de lâminas frescas com sementes montadas com água destilada. As imagens foram capturadas por microscópio óptico Leica DM 500, com câmera Leica ICC 50 HD acoplada. Posteriormente as medidas de comprimento e largura de 100 sementes foram tomadas utilizando o programa Anati Quanti versão 2.0 para Windows® (AGUIAR et al., 2007).

Para os estudos de temperatura plantas de *B. martiana* ( $3,0 \pm 1,0$  cm de comprimento) oriundas de cultivo *in vitro*, sem raízes, foram transferidas para frascos Erlenmeyers com volume de 125 mL contendo 50 mL de meio de cultura Knudson C acrescido de  $0,57\mu\text{M}$  de benziladenina (BA) e  $0,57\mu\text{M}$  do ácido naftalenoacético (ANA) os quais foram mantidos em câmaras de crescimento com temperaturas ajustadas para 25, 30 e 35 °C (tratamentos). Foram realizadas seis repetições (frascos contendo cinco plantas) por tratamento (n=30). Os frascos foram fechados com rolhas de borracha perfuradas, cujos furos foram preenchidos com pequenos tufo de algodão umedecidos com uma solução de permanganato de potássio saturada após a transferência dos explantes. Os resultados foram avaliados por meio das seguintes variáveis: número de brotos e raízes formados/explante, comprimento do maior broto (medida da base da planta até a gema apical) e da maior raiz após 120 dias de cultivo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes à descrição biométrica das sementes de *B. martiana* (Figura 1) revelaram que elas apresentaram média de 212,67 um de comprimento e 52,33 um de largura. Sementes de *Cyclopogon elatus* apresentaram média de 690 um de comprimento e 91 um de largura, o que demonstra sementes com dimensões relativamente similares às da espécie aqui estudada (LALLANA; DI PERSIA, 2018). Entretanto, dimensões análogas não necessariamente

significam formas semelhantes. Por exemplo, Verma et al. (2014) ao estudarem a biometria de sementes de *Cypripedium cordigerum*, *Goodyera biflora* e *Brachycorythis obcordata* obtiveram valores de comprimento maiores que de largura, porém suas formas variaram entre fusiforme, filiforme e espatuladas. As sementes de *B. martiana* apresentaram uma grande variação em suas dimensões, o que é demonstrado por altos coeficientes de variação.



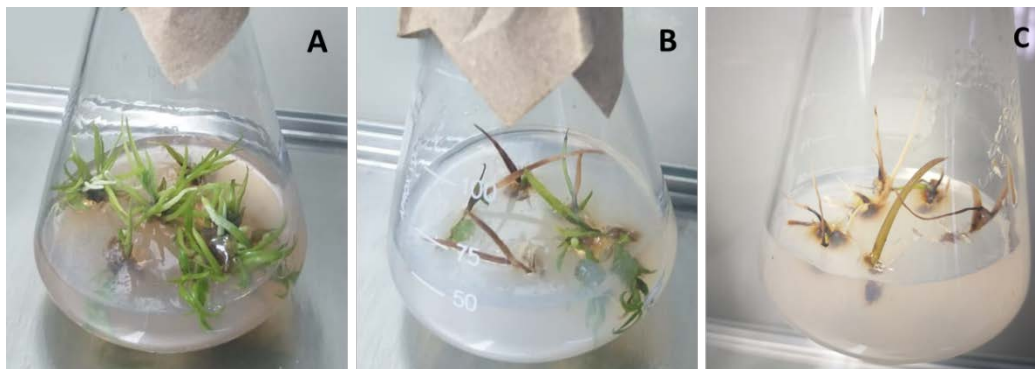
**Figura 1.** Frequências de comprimento (A) e largura (B) de sementes de *Brassavola martiana*.

Os resultados referentes ao experimento de temperatura estão apresentados na Tabela 1. A porcentagem de sobrevivência das plantas foi de 80% para o tratamento de 25°C e de 76,6% para o de 30°C, enquanto que o tratamento de 35°C não se mostrou adequado para esta variável, uma vez que a porcentagem de sobrevivência foi de apenas 35%. Para o número de raízes, comprimento da maior raiz e número de brotos 25 °C foi significativamente superior aos demais. Em relação ao comprimento do maior broto não houve diferença significativa entre 25 e 30 °C. O tratamento de 35 °C apresentou os menores valores para essa variável. Assim, o tratamento de 25 °C proporcionou o melhor desenvolvimento *in vitro* para *B. martiana*. Foi observado também um melhor vigor das plantas no tratamento de 25 °C quando comparado com as outras temperaturas, o que está demonstrado na Figura 2.

Para *Psychmorchis pusilla* foi relatado que o melhor crescimento foi obtido a 27 °C, temperatura semelhante à média das regiões tropicais no Brasil onde a espécie é amplamente distribuída. Apesar disso, ao testarem as temperaturas mínima (22 °C) e máxima (32 °C), ocorrentes no local de origem, os resultados não foram positivos no cultivo *in vitro* dessa espécie (VAZ et al., 2004). Tais resultados podem indicar que a melhor temperatura para o desenvolvimento *in vitro* de determinada espécie pode não ser necessariamente igual a melhor temperatura para o desenvolvimento *ex vitro* desta mesma espécie, o que por sua vez poderia explicar o motivo do melhor desenvolvimento de *B. martiana* ocorrer a 25 °C *in vitro*, enquanto a espécie cresce em temperaturas mais elevadas no ambiente natural.

Tabela 1. Efeitos da temperatura no desenvolvimento *in vitro* de plantas de *Brassavola martiana* 120 dias após a transferência para câmaras de crescimento com temperaturas ajustadas para 25, 30 e 35°C. Sobrevivência (%); NR = número de raízes; CMR = comprimento da maior raiz, NB = número de brotos, CMB = comprimento do maior broto. Médias seguidas pela mesma letra (colunas) não apresentam diferença significativa de acordo com o teste de Dunn no nível de 5% de probabilidade.

Temperatura	Variáveis				
	Sobrevivência (%)	NR	CMR (cm)	NB	CMB (cm)
25°C	80,0 a	8,67 a	3,00 a	4,42 a	2,24 a
30°C	76,6 a	3,41 b	1,44 b	2,41 b	1,63 ab
35°C	35,0 b	2,57 b	0,52 b	1,43 b	0,73 b



**Figura 2.** Plantas de *Brassavola martiana* cultivadas *in vitro* em Erlenmeyers de 125 mL nas temperaturas de 25, 30 e 35°C, em A, B e C, respectivamente.

## CONCLUSÕES

As sementes de *B. martiana* possuem média 212,67  $\mu$ m de comprimento e 52,33  $\mu$ m de largura. Foi verificado um alto coeficiente de variação para essas medidas. Os resultados obtidos para os estudos de temperatura indicam que a melhor temperatura para o desenvolvimento *in vitro* da espécie é de 25°C.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, T. V.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; AZEVEDO, A. A.; FERREIRA, R. S. ANATI QUANTI: software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. **Planta Daninha**, v. 25, p. 649-659, 2007.
- BARROS, F. D.; VINHOS, F.; RODRIGUES, V. T.; BARBERENA, F. F. V. A.; FRAGA, C. N.; PESSOA, E. M.; FORSTER, W.; MENINI NETO, L.; FURTADO, S. G.; NARDY, C.; AZEVEDO, C. O.; GUIMARÃES, L. R. S. 2018. ORCHIDACEAE. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Fundação Jardim Botânico, 2018. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB37244>>. Acesso em: 19 mar. 2018.
- ALOMÍA, Y. A.; MUÑOZ, E.; ACOSTA-RANGEL, A. M.; OTERO, J. T. Morphometric analysis of *Vanilla* seeds (Orchidaceae) by microscopic techniques. **Lankesteriana**, v. 16, n. 1, p. 21-26, 2016.
- JOHNSON, T. R.; KANE, M. E. Effects of temperature and light on germination and early seedling development of the pine pink orchid (*Bletia purpurea*). **Plant Species Biology**, v. 27, n. 2, p. 174-179, 2012.
- LALLANA, V. G.; DI PERSIA, J. F. Caracterización morfométrica de semillas de cuatro especies de orquídeas terrestres nativas de Argentina. **Ciencias, Docencia y Tecnología**, v. 29, n. 57, p. 272-284, 2018.
- NIEVOLA, C. C.; KRAUS, J. E.; FRESCHI, L.; SOUZA, B. M.; MERCIER, H. Temperature determines the occurrence of CAM or C3 photosynthesis in pineapple plantlets grown *in vitro*. **In Vitro Plant Cellular & Developmental Biology**, v. 41, p. 832-837, 2005.
- SWAMY, K. K.; KUMAR, H. N. K.; RAMAKRISHNA, T. M.; RAMASWAMY, S. N. Studies on seed morphometry of epiphytic orchids from Western Ghats of Karnataka. **Taiwania**, v. 49, n. 2, p. 124- 140, 2004.

VAZ, A. P. A.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L.; KERBAUY, G. B. Photoperiod and temperature effects on in vitro growth and flowering of *P. pusilla*, an epiphytic orchid. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 411-415, 2004.

VENTURA, G. M. **Cultivo *in vitro* de orquídeas do grupo *Cattleya*, em diferentes meios de cultura e irradiâncias**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007. (Tese de doutorado).

VERMA, J.; SHARMA, K.; THAKUR, K.; SEMBI, J. K.; VIJ, S. P. Study on seed morphometry of some threatened Western Himalayan orchids. **Turkish Journal of Botany**, v. 38, p. 234-251, 2014.