



COLÉGIO ESTADUAL JARDIM PORTO ALEGRE

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DE EXTRATOS DE DIFERENTES ESPÉCIES DE
BABOSA (ALOE) NO DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* DE ORQUÍDEAS**

TOLEDO-PR

2022



**ELIZA GRAZIELLY ROBERTO CARDOSO
GABRIELA VITÓRIA PIRES DONAIRES
ISADORA FALKOWSKI MENEGUZZO**

DIONÉIA SCHAUREN

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DE EXTRATOS DE DIFERENTES ESPÉCIES DE
BABOSA (ALOE) NO DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* DE ORQUÍDEAS**

**Relatório apresentado à 6ª FEMIC - Feira
Mineira de Iniciação Científica.**

Orientação do Prof. Dionéia Schauren.

TOLEDO-PR

2022



RESUMO

As orquídeas são plantas de grande atração ornamental e comercial. Por ter uma difícil propagação a obtenção de mudas é proveniente do cultivo *in vitro*, que possibilita a produção em larga escala, no entanto, os custos e tempo demandados pelo cultivo são demasiadamente altos, uma vez que uma planta pode levar de três a dez anos para completar seu desenvolvimento até a primeira floração. Este projeto tem como objetivo diminuir o tempo e custo de cultivo, utilizando extratos vegetais de diferentes espécies de Aloe, que contém fito-hormônios que podem auxiliar no crescimento das plantas e reduzir seu tempo de crescimento. Para realizar o experimento foi utilizado um meio de cultura alternativo de baixo custo, desenvolvido no colégio Estadual Jardim Porto Alegre, composto por banana nanica, açúcar, carvão ativado, bockashi e ágar. Foram avaliados os extratos de: *Aloe vera* (L.) Burm. f., *Aloe maculata*, *Aloe arborescens*, e *Aloe zebrina*, nas concentrações de 2; 5; 10; 15; 20; 30; 40; 50; e 60mL no crescimento da orquídea *Dendrobium nobile* Lindl. O projeto encontra-se em andamento e os resultados preliminares serão obtidos a partir da germinação das sementes. Ao final do experimento será realizada a análise estatística, em que serão analisados o tamanho da planta, folha, raiz, e número de folhas, raízes e bulbos.

Palavras-chave: *Dendrobium nobile*; Fito-hormônios; Tempo de cultivo.



SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	5
2 JUSTIFICATIVA	7
3 OBJETIVO GERAL	8
4 METODOLOGIA	9
5 RESULTADOS OBTIDOS	16
6 CONCLUSÕES OU CONSIDERAÇÕES FINAIS	18
REFERÊNCIAS	19



1 INTRODUÇÃO

Orchidaceae diferencia-se da maioria das famílias botânicas por suas sementes não possuírem reservas nutritivas suficientes para promover a germinação (RAMOS, 1969). Desta forma, na natureza, as sementes germinam em simbiose com fungos micorrízicos (ARDITTI 1979), entretanto a utilização de meios de cultura no cultivo *in vitro* torna possível a germinação das sementes e o desenvolvimento de plântulas de orquídeas assimbioticamente.

Consideradas em sua maioria plantas do tipo epífitas (que vivem em árvores), rupícolas (que vivem sobre pedras) ou terrestres, as orquídeas apresentam raízes aéreas, cujas funções básicas são a fixação da planta aos troncos e galhos das árvores e a absorção de nutrientes, oriundos da decomposição de detritos acumulados nos troncos, bem como de umidade, proveniente das precipitações pluviométricas, do orvalho noturno e da umidade relativa do ar. Além dos tipos citados, existem também algumas espécies de orquídeas consideradas subterrâneas, como *Cryptanthemis* e *Rhizanthella* (DEMATTE, 1996; KRAMER, 1989; MILLER E WARREN, 1996).

O cultivo *in vitro* possibilita a produção de mudas em larga escala, sendo a forma mais eficaz para a obtenção de mudas. No entanto, o tempo de cultivo da orquídea é demasiadamente longo, podendo levar de 3 à 10 anos para ter a primeira floração de acordo com a espécie cultivada. Além disso, essa forma de cultivo demanda de altos custos para ser realizada, inviabilizando o cultivo para pequenos orquidófilos e projetos que buscam a reintrodução de espécies ameaçadas de extinção em ambientes naturais (SCHNEIDERS, et al. 2012).

As orquídeas apresentam desenvolvimento lento, requerendo assim, maior período de cultivo antes de serem comercializadas. Isso tem contribuído para o elevado valor unitário de suas plantas no mercado, o que acarreta em grande interesse na diminuição do tempo de formação de mudas de orquídea, principalmente, para a diminuição dos custos de produção (VICHATO VICHATO et al. 2007).

Os fito-hormônios podem auxiliar no crescimento e desenvolvimento de folhas e raízes, estimulando o crescimento e podendo diminuir o tempo de cultivo (PETRI et al.



2016). Algumas plantas como as do gênero Aloe, conhecidas popularmente como babosa, contém grandes quantidades de hormônios vegetais como o ácido indol acético (AIA), podendo ser aplicada como extrato. A associação do extrato vegetal que contém fitohormônios semelhantes aos encontrados comercialmente pode se tornar uma alternativa de baixo custo para estimular o desenvolvimento das orquídeas durante o cultivo *in vitro*, podendo reduzir o tempo e custos tanto para a produção em larga escala, quanto possibilitar o cultivo para projetos que buscam reintroduzir espécies que sofrem com a ameaça de extinção.

Dessa forma, este projeto tem como objetivo avaliar o efeito de extratos vegetais de diferentes espécies de Aloe no cultivo *in vitro*, com a finalidade de reduzir tempo de cultivo das orquídeas, sem adicionar custos, viabilizando a produção para pequenos produtores e para projetos que visam a reintrodução de espécies nativas.



2 JUSTIFICATIVA

As sementes de orquídeas não possuem endosperma, que é o tecido nutriente responsável pela energia inicial para a germinação. Na natureza, para germinar as sementes dessas plantas, é necessária a simbiose entre certos fungos e orquídeas (ARDITTI, 1992). Portanto, a porcentagem de sementes germinadas no habitat natural é muito baixa.

O cultivo in vitro dessas plantas permite a germinação de todas as sementes viáveis, obtendo-se um grande número de plantas. No entanto, ainda é um método caro devido ao custo dos produtos usados para preparar o meio de cultura. (CALDAS CALDAS et al., 1990).

A necessidade de acelerar esse processo nos levou a buscar alternativas. A babosa se mostra uma opção viável, desta forma o projeto busca usar a babosa como acelerador ou indutor de germinação no desenvolvimento in vitro de orquídeas.



3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O trabalho tem como objetivo de reduzir o tempo de cultivo de orquídeas no *in vitro* usando extratos vegetais.

3.2 Objetivos específicos

Este projeto tem como objetivo avaliar o efeito de extratos vegetais de diferentes espécies de Aloe no cultivo *in vitro*, com a finalidade de reduzir tempo de cultivo das orquídeas, sem adicionar custos, viabilizando a produção para pequenos produtores e para projetos que visão a reintrodução de espécies nativas.



• 4 METODOLOGIA

O preparo do meio de cultura e inserção das sementes foi realizado no laboratório de ciências do Colégio Estadual Jardim Porto Alegre. Inicialmente as flores da orquídea *Dendrobium nobile* Lindl foram fecundadas por meio de fecundação cruzada, levando o período aproximado de 180 a 270 dias para a formação da cápsula com as sementes maduras.

Os frascos e tampas metálicas foram higienizados utilizando água e detergente neutro, posteriormente filtros de papel foram recortados no tamanho aproximado da tampa metálica e foram inseridos nas mesmas.

Os frascos foram identificados utilizando etiquetas com o teste, tratamento, repetição e pH utilizados, sendo que para cada tratamento foram utilizadas 5 repetições.

Os extratos foram preparados utilizando o gel das folhas de babosa. Inicialmente as folhas foram cortadas ao meio e o gel foi retirado com retirado e processado com um garfo para a obtenção de um líquido. As figuras 1, 2, 3, e 4 apresentam as folhas das diferentes espécies, e a figura 5 apresenta a extração do gel.

Figura 1: Folha de *Aloe zebrina*.



Fonte: Gabriela Vitória Pires Donaires.

Figura 2: Folha de *Aloe arborescens*.



Fonte: Gabriela Vitória Pires Donaires.



Figura 3: Folha de *Aloe maculata*.



Fonte: Gabriela Vitória Pires Donaires.

Figura 4: Folha de *Aloe vera* (L.) Burm. f.



Fonte: Gabriela Vitória Pires Donaires.

Figura 5: Extração do gel da babosa.



Fonte: Gabriela Vitória Pires Donaires.

O meio de cultura alternativo foi preparado utilizando banana nanica *in natura*, açúcar, carvão ativado, bokashi e ágar, todos os ingredientes foram pesados em uma balança de precisão e triturados em um moinho de pás juntamente com água destilada, exceto o ágar, como mostra a figura 6.

**Figura 6:** Ingredientes sendo processados.**Fonte:** Isadora Falkowski Meneguzzo.

Os extratos de: *Aloe vera* (L.) Burm. f., *Aloe maculata*, *Aloe arborescens*, e *Aloe zebrina*, foram pipetados nas concentrações de 2; 5; 10; 15; 20; 30; 40; 50; e 60mL, como apresentado na tabela 1.

Tabela 1: Tratamentos e suas respectivas concentrações.

TRATAMENTO	mL	ESPÉCIE UTILIZADA
T1	0 mL	<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.
T2	2 mL	<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.
T3	5mL	<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.
T4	10mL	<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.
T5	15mL	<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.
T6	20mL	<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.
T7	30mL	<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.
T8	40mL	<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.
T9	50mL	<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.
T10	60mL	<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.
T11	0 mL	<i>Aloe maculata</i>
T12	2 mL	<i>Aloe maculata</i>
T13	5mL	<i>Aloe maculata</i>
T14	10mL	<i>Aloe maculata</i>
T15	15mL	<i>Aloe maculata</i>
T16	20mL	<i>Aloe maculata</i>
T17	30mL	<i>Aloe maculata</i>
T18	40mL	<i>Aloe maculata</i>
T19	50mL	<i>Aloe maculata</i>
T20	60mL	<i>Aloe maculata</i>
T21	0 mL	<i>Aloe arborescens</i>
T22	2 mL	<i>Aloe arborescens</i>
T23	5mL	<i>Aloe arborescens</i>



T24	10mL	<i>Aloe arborescens</i>
T25	15mL	<i>Aloe arborescens</i>
T26	20mL	<i>Aloe arborescens</i>
T27	30mL	<i>Aloe arborescens</i>
T28	40mL	<i>Aloe arborescens</i>
T29	50mL	<i>Aloe arborescens</i>
T30	60mL	<i>Aloe arborescens</i>
T31	0 mL	<i>Aloe zebrina</i>
T32	2 mL	<i>Aloe zebrina</i>
T33	5mL	<i>Aloe zebrina</i>
T34	10mL	<i>Aloe zebrina</i>
T35	15mL	<i>Aloe zebrina</i>
T36	20mL	<i>Aloe zebrina</i>
T37	30mL	<i>Aloe zebrina</i>
T38	40mL	<i>Aloe zebrina</i>
T39	50mL	<i>Aloe zebrina</i>
T40	60mL	<i>Aloe zebrina</i>

Fonte: Isadora Falkowski Meneguzzo.

O meio de cultura contendo extrato foi levado para o bico de bulsen e aquecidos até atingir 70°C para então ser adicionado o ágar, como mostra a figura 6.

Figura 6: Adicionando ágar ao meio de cultura.



Fonte: Fonte: Isadora Falkowski Meneguzzo.

Após o resfriamento do meio de cultura o pH do meio de cultura foi regulado em 5.6 utilizando um pHmetro de bolso para medir e bicarbonato de sódio e ácido acético para regular como mostra a figura 7.



Figura 7: Regulando o pH do meio de cultura.



Fonte: Eliza Grazielly Roberto Cardoso

Foram envazados 50mL de meio de cultura em cada frasco e estes foram autoclavados à 1.4 a.t.m na temperatura de 125°C durante 20 minutos com a tampa parcialmente aberta para evitar possíveis danos aos frascos. As figuras 8 e 9 apresentam o desenvolvimento dessa etapa.

Figura 8: Depositando frascos na autoclave.



Fonte: Isadora Falkowski Meneguzzo.

Figura 9: Fechando a autoclave.



Fonte: Gabrieli Monique Campos.



As sementes foram inseridas após a estabilização do meio, para a inserção das sementes foi utilizada uma cuba de vidro com duas aberturas circulares, contendo uma lâmpada incandescente em seu interior como forma alternativa ao fluxo laminar. As cápsulas da orquídea foram submetidas à uma solução de hipoclorito 12% durante 10 minutos. No interior da cuba de vidro foram realizadas lavagens consecutivas das cápsulas com água destilada autoclavada e posteriormente estas foram partida com o auxílio de um bisturi próxima a lâmpada para ter o acesso as sementes.

Os frascos foram higienizados, flambados e colocados dentro da cuba. Para a inserção das sementes os frascos foram abertos próximos a lâmpada e estas foram inseridas. A figura 10 mostra a inserção das sementes sendo realizada.

Figura 10: Inserção das sementes sendo realizada.



Fonte: Gabrieli Monique Campos.

Após a inserção os frascos foram flambados e vedados com plástico filme como mostra a figura 11.

Figura 11: Frascos sendo flambados e vedados.



Fonte: Gabrieli Monique Campos.



Os frascos foram levados pra uma sala de cultivo no orquidário do colégio, onde semanalmente foram realizadas avaliações para observar a germinação das sementes e possíveis contaminações por fungos e bactérias.

Ao final do experimento para realiz a análise das plantas, serão abertas 3 repetições de cada tratamento, sendo avaliadas dez plantas em cada frasco escolhidas aleatoriamente, totalizando 30 plantas por tratamento. Será avaliado o tamanho da planta, tamanho da folha, tamanho da raiz, número de folhas, número de raízes e número de bulbos.



5 RESULTADOS OBTIDOS

O experimento encontra-se em andamento e os resultados preliminares mostram ser satisfatórios pois foi possível observar grande diferença visual no tamanho das plantas,. A partir da germinação é possível concluir se os extratos influenciam nos estágios iniciais de desenvolvimento.

Por meio dos resultados obtidos a partir da análise das plântulas, na qual será observado o tamanho da planta, folha, raiz, e número de folhas, raízes e bulbos, ao final do experimento será realizada a análise estatística utilizando o sistema SISVAR e o teste de média de Scott-Knott à 0,05% de significância.

Em pesquisa realizada por Altizani Júnior et. al., (2018) avaliou diferentes fertilizantes organominerais, para a estaquia de erva cidreira brasileira, variando diferentes proporções de terra, vermicomposto e areia, sendo um dos organominerais o AloeFértil® uma solução concentrada à base de *Aloe vera* e obtiveram bons resultados em concentrações específicas.

Figura 12: Frascos com as plantas .



Fonte: Gabriela Vitória Pires Donaires.



Figura 13: Frascos com as plantulas do controle e com a babosa (*Aloe arborescens*)



Fonte: Gabriela Vitória Pires Donaires.

Figura 14: Frascos com as plantulas do controle e com a babosa (*Aloe maculata*)



Fonte: Gabriela Vitória Pires Donaires.



6 CONCLUSÕES OU CONSIDERAÇÕES FINAIS

O projeto encontra-se em andamento e não apresenta resultados até o momento. Os resultados preliminares serão obtidos por meio das avaliações semanais após a germinação das sementes. Ao final do experimento será realizada a análise estatística para que seja possível obter resultados mais precisos.



REFERÊNCIAS

ALTAZANI JÚNIOR, J. C.; MICHETTI, C. A.; SHINOZAKI, G. A.; LIMA, C. B.; BELLETTINI, N. M. T.; Substratos e fertilizante organomineral para a estaquia de erva cidreira brasileira. 2018. Graduação em Agronomia. **Universidade Estadual do Norte do Paraná – Bandeirantes** - PR.

AMARAL, T. L. Manejo de adubação em *Phalaenopsis* (Orchidaceae) cultivado em fibra de coco. 2007. Tese (Mestrado em Produção vegetal) - **Universidade Estadual Do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes** – RJ.

BRUMANO, C. N. A trajetória social da baunilha do cerrado na cidade de Goiás/GO. 2019. Dissertação (Mestrado em Turismo). - **Universidade de Brasília, Brasília** – DF.

DRONK, A. G. Meios de cultura e condições de luminosidade para cultivo *in vitro* de *Cattleya amethystoglossa* Linden & Rchb.f. 2004. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – **Universidade Federal do Paraná, Curitiba** – PR.

GELL, J. A. Desenvolvimento inicial de três espécies Amazônicas de Orchidaceae em diferentes condições de cultivo: Aspectos morfo anatômicos. 2002. Dissertação (Mestrado em Recursos Genético Vegetais) – **Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis** – SC.

NASCIMENTO, M. G. A. Morfogênese *in vitro* do híbrido de orquídea *Brassavola flagellaris* X *Cattleya harrisoniana*. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - **Universidade Federal de Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas** – BA.

PETRI, J.L.; PALLADINI, L.A.; POLA, A.C. Dormência e indução a brotação em macieira. In: **EPAGRI**. A cultura da macieira. Florianópolis, 2006. p.261-297.

RASMUSSEN, H.N. 1995. Terrestrial orchid: from seed to mycotrophic plant. **Cambridge University Press**

SCHNEIDERS, Danieli; PESCADOR, Rosete; BOOZ, Maristela Raitz and SUZUKI, Rogério Mamoru. Germinação, crescimento e desenvolvimento *in vitro* de orquídeas (*Cattleya* spp., Orchidaceae). **Rev. Ceres** [online]. 2012, vol.59, n.2.

SILVA, E. F. Multiplicação e crescimento *in vitro* de orquídea *Brassiocattleya pastoral* x *Laeliocattleya amber* Glow. 2003. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – **Universidade Federal de Lavras, Lavras** – MG.

SOUZA, G. R. B. Desenvolvimento *in vitro* e criopreservação de sementes de orquídeas. 2015. Tese (Doutorado em Agronomia) - **Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal** – SP.

Título do projeto



STOUTAMIRE, W.P. Seeds and seedlings of native orchids. **Michigan botanist**, v. 3, p. 107-119, 1964.