

**CARACTERIZAÇÃO DE PLANTA E CULTIVO *IN VITRO* DE *Vanilla*
*sp.***

Renata de Aguiar Carneiro

Urutaí - GO

2025

RENATA DE AGUIAR CARNEIRO

**CARACTERIZAÇÃO DE PLANTA E CULTIVO *IN VITRO* DE *Vanilla*
*sp.***

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso em Licenciatura em Ciências Biológicas do Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí como parte dos requisitos para conclusão do curso de graduação, sob orientação da Profa. Ma. Lara Bernardes da Silva Ferreira

Urutaí -GO

2025

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/IF Goiano**

C287 Carneiro , Renata de Aguiar.

Caracterização de planta e cultivo in vitro de Vanilla sp. [manuscrito] / Renata de Aguiar Carneiro. -- Urutaí, GO: IF Goiano, 2025.

31 fls.

Orientadora: Ma. Lara Bernardes da Silva Ferreira

Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí, 2025.

1. Micropropagação. 2. Orquídeas. 3. Morfologia. 4. Baunilha I. Título. II. IF Goiano - Campus Urutaí.

CDU 581.4

Anexo III – REGULAMENTO DE TC

ATA DE APRESENTAÇÃO DE TRABALHO DE CURSO

Às 13h30 horas do dia 17 de março de 2025, reuniu-se

() Por vídeo conferência

() Presencialmente na sala nº ____ do Prédio _____ do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Urutai

a Banca Examinadora do Trabalho de Curso intitulado “**Caracterização de Planta e Cultivo *In Vitro* de *Vanilla* sp.**” composta pelos avaliadores

1 M^a. Lara Bernardes da Silva Ferreira (Orientadora)

2 Dr^a. Luciana Aparecida Siqueira Silva (Membro da banca)

3 Dr. Anderson Dias Vaz de Souza (Membro da banca)

para a sessão de defesa pública do citado trabalho, requisito parcial para a obtenção do Grau de **Licenciado/a em Ciências Biológicas**. A Presidente da Banca Examinadora, Lara Bernardes da Silva Ferreira, passou a palavra ao licenciando (a)

Renata de Aguiar Carneiro para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos membros da Banca Examinadora e respectiva defesa do licenciando(a). Logo após, a Banca Examinadora se reuniu, sem a presença do(a) licenciado(a) e do público, para expedição do resultado final. A Banca Examinadora considerou que o(a) discente foi:

() **APROVADO**

() **NÃO APROVADO**

por unanimidade, tendo sido atribuído a nota (8,7) ao seu trabalho. O resultado foi então comunicado publicamente ao(a) licenciando(a) pelo Presidente da Banca Examinadora. Nada mais havendo a tratar, o Presidente da Banca Examinadora deu por encerrada a defesa.

Documento assinado digitalmente
gov.br LARA BERNARDES DA SILVA FERREIRA
Data: 17/03/2025 14:48:48-0300
Verifique em <https://validar.itb.gov.br>

Documento assinado digitalmente
gov.br ANDERSON DIAS VAZ DE SOUZA
Data: 17/03/2025 14:57:38-0300
Verifique em <https://validar.itb.gov.br>

Documento assinado digitalmente
gov.br LUCIANA APARECIDA SIQUEIRA SILVA
Data: 17/03/2025 15:18:09-0300
Verifique em <https://validar.itb.gov.br>

Assinatura dos membros da Banca Examinadora	Notas
1. Lara Bernardes da Silva Ferreira	9,1
2. Luciana Aparecida Siqueira Silva	8,5
3. Anderson Dias Vaz de Souza	8,5
Média final:	8,7

Urutai-GO, 17 de março de 2025.

Após a defesa, reunir as Fichas de Avaliação e a Ata, assinadas (à mão, Gov.br ou SUAP), e encaminhar uma cópia digital à coordenação de TC. O orientador também deverá ter uma cópia digital. Em caso de documentos físicos, entregar os originais à coordenação de TC.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO

PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS

NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese (doutorado) | <input type="checkbox"/> Artigo científico |
| <input type="checkbox"/> Dissertação (mestrado) | <input type="checkbox"/> Capítulo de livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia (especialização) | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input checked="" type="checkbox"/> TCC (graduação) | <input type="checkbox"/> Trabalho apresentado em evento |

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Renata de Aguiar Carneiro

Matrícula:

Título do trabalho:

CARACTERIZAÇÃO DE PLANTA E CULTIVO IN VITRO DE Vanilla sp.

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 18/ 03 / 2025

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

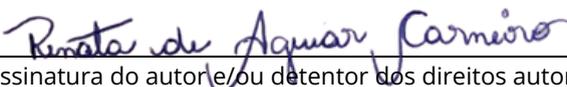
- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Urutaí

Local

18 / 03 / 2025

Data


Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:

Assinatura do(a) orientador(a)

Documento assinado digitalmente

LARA BERNARDES DA SILVA FERREIRA

Data: 18/03/2025 15:04:10-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me ajudar a superar e enfrentar todos os obstáculos encontrados ao longo do curso.

Aos meus pais e à minha irmã, que me incentivaram e me ensinaram a importância dos estudos, do esforço e da dedicação.

À Instituição, que me proporcionou as ferramentas necessárias para o desenvolvimento do meu projeto.

Seu corpo docente e sua equipe foram fundamentais para a minha formação acadêmica.

Agradeço também aos meus colegas de turma, que estiveram presentes, oferecendo ajuda e colaboração.

Lista de ilustrações

	Páginas
Figura 1. A, B) Caracterização biométrica de plantas de Orquídeas gênero <i>Vanilla</i> Folha: comprimento (cm) e diâmetro transversal (cm); C, D) frutos (vagem) comprimento (cm) e diâmetro transversal (cm); D, E) comprimentos do internódio e diâmetro transversal (cm).....	13
Figura 2. Segmentos nodais com folha de <i>Vanilla</i> com corte de 2/3. Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC) do Instituto Federal Goiano, Campus, Urutaí, GO.....	14
Figura 3. A, B) Redução de explante de <i>Vanilla</i> em câmara de fluxo laminar, para obtenção do segmento nodal a 3 cm e posterior inoculação <i>in vitro</i> . Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC) do Instituto Federal Goiano, Campus, Urutaí, GO.....	15
Figura 4. Trabalho de inoculação <i>in vitro</i> de <i>Vanilla</i> sendo realizado em câmara de fluxo laminar. Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC) do Instituto Federal Goiano, Campus, Urutaí, GO.....	16
Figura 5. A) Segmento uninodal de orquídea, inoculado em meio de cultura. B) Frascos inoculados e em disposição na sala de crescimento. Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC) do Instituto Federal Goiano, Campus, Urutaí, GO.....	17
Figura 6. A, B) Orquídea com abundância em folhas, e em desenvolvimento vegetativo em ambiente doméstico. Pontalina, GO.....	18
Figura 7. Flor e fruto (vagem) ocorrendo simultaneamente em planta de <i>Vanilla</i> . Pontalina, GO. O processo de abertura das flores foi averiguado no decorrer do mês de setembro de 2021.....	19
Figura 8. A, B) Flor completa de orquídea do gênero <i>Vanilla</i> . Setembro de 2021. Pontalina, GO.....	19
Figura 9. A) Flor completa de orquídea do gênero <i>Vanilla</i> , com sépalas em processo	20

de abertura. B) Flor completa de orquídea do gênero <i>Vanilla</i> , com sépalas abertas. Setembro de 2021, Pontalina, GO.....	
Figura 10. Flor completa de orquídea do gênero <i>Vanilla</i> , com labelo em processo de abertura. Setembro de 2021. Pontalina, GO.....	20
Figura 11. A, B) Flor completa de orquídea do gênero <i>Vanilla</i> , com sépalas e labelo totalmente abertos. Setembro de 2021, Pontalina, GO.....	21
Figura 12. Flor de <i>Vanilla</i> . Sendo visitada por possível polinizador.....	21
Figura 13. Flor totalmente aberta e exuberante.....	22
Figura 14. Duas flores de orquídeas <i>Vanilla</i> em tempos diferentes de desenvolvimento.....	22
Figura 15. Vagem de orquídea em processo de desenvolvimento após polinização natural da Flor.....	23
Figura 16. A e B) Frutos no início do processo de escurecimento da casca e amadurecimento das sementes iniciado da base distal para a proximal do pedúnculo; C) Fruto com a casca totalmente escurecida. Pontalina, maio de 2022.....	24
Figura 17. Vagem com sementes totalmente maduras. A cor escura as sementes é uma característica dessa espécie. Pontalina, junho de 2022.....	24
Figura 18 – Orquídea inoculada <i>in vitro</i> e em sala de crescimento. Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC) do Instituto Federal Goiano, Campus, Urutaí, GO.....	27

Lista de Tabelas

	Páginas
Tabela 1. Valores de média entre as diferentes concentrações dos meios e valores de média geral, máximo, o mínimo, desvio padrão e coeficiente de variação dos tratamentos para a taxa (%) das variáveis: oxidação (Ox.); Fungos (fung.); bactérias (bac.); Raízes (R.); Brotos (Br.); Calos na Base (C.B.); Sobrevivência (Sobrev.) para estabelecimento <i>in vitro</i> de <i>Vanilla</i> sp em diferentes concentrações de sais do meio de cultura Murashige & Schoog. Laboratório de Biotecnologia do Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí, GO, 2022.....	25
Tabela 2. Identificação de agentes contaminantes em frascos de meio de cultura para estabelecimento <i>in vitro</i> de <i>Vanilla</i> sp, em diferentes concentrações de sais do meio de cultura Murashige & Schoog. Laboratório de Biotecnologia do Instituto Federal Goiano Campus Urutaí, GO, 2022.....	26

Sumário

1. INTRODUÇÃO	11
2. MATERIAIS E MÉTODOS	12
2.1 Caracterização da planta de orquídea	12
2.2. Inoculação <i>in vitro</i>	14
2.3. Assepsia.....	14
2.4 Estabelecimento <i>in vitro</i>	15
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
3.1. Caracterização	17
3.2. Cultivo <i>in vitro</i>	26
4. CONCLUSÃO	28
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
Anexos.....	31

RESUMO

Carneiro, Renata de Aguiar. **Caracterização de planta e cultivo *in vitro* de *Vanilla sp.*** Monografia (Curso Licenciatura em Ciências Biológicas). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Urutaí, Urutaí, GO, 2025. 30p

RESUMO: A *Vanilla sp* (orquídea), é popularmente conhecida como baunilha e tem importância econômica devido as iguarias que podem ser comercializadas e também como plantas ornamentais. A micropropagação é uma maneira artificial de auxiliar no cultivo o que pode ajudar no sucesso do plantio de *Vanillas sp*. Sobretudo, há escassez de trabalho que associem o cultivo de *Vanilla.sp* em micropropagação o que justifica estudos e produção de trabalhos que abordem esse tema. Portanto o objetivo do trabalho foi descrever a morfologia da planta *Vanilla sp* de maneira que se avalie a brotação, o desenvolvimento do cultivo *in vitro* da planta e como objetivos específicos se tem, caracterizar o processo vegetativo e reprodutivo da planta, realizar um levantamento que avalie a taxa de contaminação nos meios de cultura, caracterizar os tipos de agentes contaminantes, determinar as taxas de sobrevivência e enraizamento bem como identificar a taxa de brotação. Primeiramente, houve a caracterização das orquídeas em que se utilizou quatro amostras com quatro tratamentos diferentes, e assim foi realizada a análise morfológica, ademais para a descrição anatômica se utilizou o terço médio das plantas e feita a medição do comprimento das folhas, frutos e dos internódios. Posteriormente, foi realizada a inoculação *in vitro* dos espécimes, em que houve a assepsia, o estabelecimento *in vitro* De maneira que os meios de cultura foram T0 (água sacarose, ágar e carvão ativado); 100% (T1), 75% (T2), 50% (T3); 25% (T4) da concentração de macro e micronutrientes, acrescidos de 100 mg L⁻¹ de meio-inositol, Ágar-agar a 5,0 g L⁻¹ e sacarose a 30 g L⁻¹; e o carvão ativado a 1,0 g L⁻¹. O pH foi alterado para 5,2. Como resultados os frutos mediram 2,0 cm transversal e 12,0 cm de comprimento, assim seis frutos foram coletados enrolados em papel toalha úmido e observou-se que em baixa temperatura o amadurecimento foi contínuo, mas minimizado. No que concerne ao cultivo *in vitro*, houve manifestação de agentes contaminante em todos os tratamentos. A taxa de raízes ocorreu apenas no meio T1 com 50%. Em relação a brotação, ela foi inexistente e a taxa de sobrevivência apenas o T4 não obteve êxito. Não foram identificadas bactérias. Espera-se que o cultivo de *Vanilla sp.*, serva de subsídios para novas pesquisas na área.

Palavras Chave: Micropropagação; Orquídeas; Morfologia; Baunilha.

ABSTRACT

Carneiro, Renata de Aguiar. **Characterization of plant and in vitro cultivation of *Vanilla* sp.** Monograph (Degree Course in Biological Sciences). Federal Institute of Education, Science, and Technology Goiano - Urutaí Campus, Urutaí, GO, 2025. 30p.

ABSTRACT: *Vanilla* sp. (orchid) is popularly known as *Vanilla* and has economic importance due to the delicacies that can be marketed and also as ornamental plants. Micropropagation is an artificial way to assist in the cultivation which can help in the success of the planting of *Vanilla* sp. Above all, there is a lack of work that associates the cultivation of *Vanilla* sp in micropropagation, which justifies studies and production of works that address this topic. Therefore, as general objectives of the work is to describe the morphology of the plant *Vanilla* sp in a way that the sprouting, the development of the in vitro cultivation of the plant and as specific objectives one has, to characterize the vegetative and reproductive process of the plant, to carry out a survey that evaluate the contamination rate in the culture media, characterize the types of contaminants, determine survival and rooting rates as well as identify the sprouting rate. As a methodology of the work, first, there was the characterization of the orchids in which four samples with four different treatments were used, and thus the morphological analysis was carried out, in addition to the anatomical description, the middle third of the plants was used and the measurement of the length of the plants was performed. leaves, fruits and internodes. Subsequently, the in vitro inoculation of the specimens was carried out, in which there was asepsis, the in vitro establishment so that the culture media were T0 (sucrose water, agar and activated charcoal); 100% (T1), 75% (T2), 50% (T3); 25% (T4) of the concentration of macro and micronutrients, plus 100 mg L⁻¹ of half-inositol-, Agar-agar at 5.0 g L⁻¹ and sucrose at 30 g L⁻¹; and activated carbon at 1.0 g L⁻¹. The pH was changed to 5.2. As a result, the fruits measured 2.0 cm transversally and 12.0 cm in length, so six fruits were collected wrapped in wet paper towels and it was observed that at low temperature the ripening was continuous, but minimized. Concerning the *in vitro* culture, there were manifestations of contaminating agents in all treatments. The root rate occurred only in the T1 medium with 50%. In relation to sprouting, it was non-existent and the survival rate only T4 was not successful. Finally, no bacteria were identified. Finally, it can be seen that the relevance of studying the cultivation of *Vanilla* sp., since the importance of certain mycorrhizas in their symbiosis relationship was noticeable.

Keywords: Micropropagation; Orchids; Morphology; *Vanilla*

1. INTRODUÇÃO

As orquídeas do gênero *Vanilla* sp, uma planta tropical originária do México que pertence à família *Orquidaceae* (Costa et al., 2022). Popularmente conhecidas como baunilha, tem em Madagascar, seu maior produtor, a nível de mundo (Oliveira et al., 2022). O fruto proveniente da flor da *Vanilla* é considerado uma especiaria, pois tem o poder de mudar o aroma e o sabor dos preparos alimentícios nos quais é utilizado. Além disso, a flor promove um espetáculo de rara beleza, podendo a baunilha, ser cultivada como planta ornamental.

Vale ressaltar que, a baunilha devido à mão-de-obra necessária na produção das vagens, é a segunda especiaria mais valorizada do mundo, atrás apenas do açafrão. Em 2018, o quilo ficou ligeiramente mais caro que o da prata, atingindo, na época, um pico de US\$ 600, cerca de R\$ 2.400 (Conexão Capixaba, 2022).

O Brasil não figura entre os países produtores a nível de exportação, porém registra alguns cultivos que atendem minimamente o mercado interno, a parcela significativa comercializada no país é de origem estrangeira – em especial, em sua forma sintética como sua essência. Quando se fala de cultivo, refere-se a uma produção em escala, onde a planta usada na maioria dos casos é uma espécie melhorada geneticamente de nome *Vanilla planifolia*. Entretanto, na Região Centro-Oeste, 11 espécies que ocorrem de forma natural já foram catalogadas, sendo 4 delas de potencial valor comercial (Brumano, 2019).

A micropropagação através da cultura de células é uma das técnicas mais promissoras para a obtenção de grandes quantidades de mudas qualificadas com baixos custo de produção (Divakaran et al., 2015). Em que as altas taxas de multiplicação e qualidade fitossanitárias das plantas micropropagadas constituem importante ferramenta para a obtenção de clones superiores (Rodríguez-Deméneghi et al., 2023).

Dentre as diversas vantagens da micropropagação vegetal, merece destaque a produção rápida de matérias propagativos, livres de doenças e pragas, com elevada qualidade genética em tempo reduzido. Por meio dessa técnica é possível produzir grandes quantidades de plantas, sem influência das variações climáticas (Rocha, 2009).

Na micropropagação fatores como o tipo de explantes, concentração de sacarose; iluminação e os meios nutritivos e suas composições são os responsáveis pela manutenção do material vegetal *in vitro* (Cid, 2010).

O meio de cultura geralmente é composto por macro e micronutrientes acrescidos de reguladores de crescimento e, ou, vitaminas. A fórmula que compõe o meio de cultura

Murashige e School é utilizado em larga escala nos processos de cultivo *in vitro*, podendo variar a concentração em função da espécie ou do objetivo do trabalho (Cid, 2010).

A pouca informação sobre a caracterização de plantas de orquídeas cultivadas no Cerrado e seu cultivo *in vitro*, sugere a necessidade de realização de novas pesquisas que contribuam para a seleção de materiais genéticos mais produtivos e indicados a cada região e favoreçam o desenvolvimento de novas tecnologias que ajudem a incrementar a modernização da produção a partir de estudos de caracterização morfológica.

A realização deste trabalho se justifica por ser a caracterização de plantas e o desenvolvimento *in vitro* de orquídeas *Vanilla* sp. em diferentes meios de cultura, uma importante contribuição da área científica. Essa pesquisa pode gerar subsídios para a produção de mudas via sementes e de forma vegetativa *in vivo* e *in vitro*. Esse escopo trabalha conhecer, manter o desenvolver de mecanismos que viabilizem sua produção sustentável, uma vez que na literatura as condições de cultivo da espécie *Vanilla*, ainda são escassos.

Assim, o objetivo desse estudo foi a caracterização morfológica de plantas de *Vanilla* sp. e o estabelecimento e desenvolvimento *in vitro* de orquídeas *Vanilla* sp. em diferentes concentrações de meios de cultura com 0,00; 25; 50; 75 e 100% da concentração dos sais desenvolvidos por Murashige & School (Anexo 1). O tema é de importância para área comercial e ambiental, pois desta forma será possível realizar a produção de mudas de orquídeas para o mercado consumidor, bem como, desenvolver protocolos efetivos para produção de mudas *in vivo* e *in vitro*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Caracterização da planta de orquídea

As orquídeas utilizadas, foram oriundas de propagação vegetativa e com 2 anos de cultivo. A análise morfológica foi realizada por meio de observações dos indivíduos, na cidade de Pontalina nas coordenadas: Situada a 635 metros de altitude, sob as seguintes coordenadas geográficas: Latitude: 17° 31' 13" Sul, Longitude: 49° 26' 39" Oeste. Os dados de coleta, registro fotográfico com câmera digital.

Para descrição anatômica foram utilizadas amostras do terço médio das plantas e realizada as medidas das folhas, comprimento e diâmetro transversal em centímetros (Figuras 1A, 1B). Comprimento do fruto (vagem) comprimento e diâmetro transversal em centímetros (cm) (Figuras 1C, 1D). O comprimento dos internódios (Figuras 1E, 1F). A quantidade de folhas, flores e frutos em um metro de planta; quantidade de flores abertas; quantos dias as flores permaneceram abertas. Para essa pesquisa, foram utilizadas duas plantas que se

desenvolveram em período de seca e chuva, coletadas de 4 indivíduos (3 folhas para cada indivíduo). O comprimento e diâmetro transversal foram aferidos por régua graduada.

Figura 1. A, B) Caracterização biométrica de plantas de Orquídeas gênero *Vanilla* Folha: comprimento (cm) e diâmetro transversal (cm); C, D) frutos (vagem) comprimento (cm) e diâmetro transversal (cm); E, F) comprimentos do internódio e diâmetro transversal (cm). 2022.



Fonte: autores.

2.2. Inoculação *in vitro*

Estudo realizado com explantes de orquídeas da espécie *Vanilla* sp. A Coleta do material vegetal foi realizada em propriedade particular no cerrado do município de Araguari-MG, no decorrer do mês de agosto de 2018.

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC) do Instituto Federal Goiano, Campus, Urutaí, GO, com explantes compostos por segmentos uninodais da espécie (Figura 2).

Figura 2. Segmentos nodais com folha de *Vanilla* com corte de 2/3. Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC) do Instituto Federal Goiano, Campus, Urutaí, GO.



Fonte: autores.

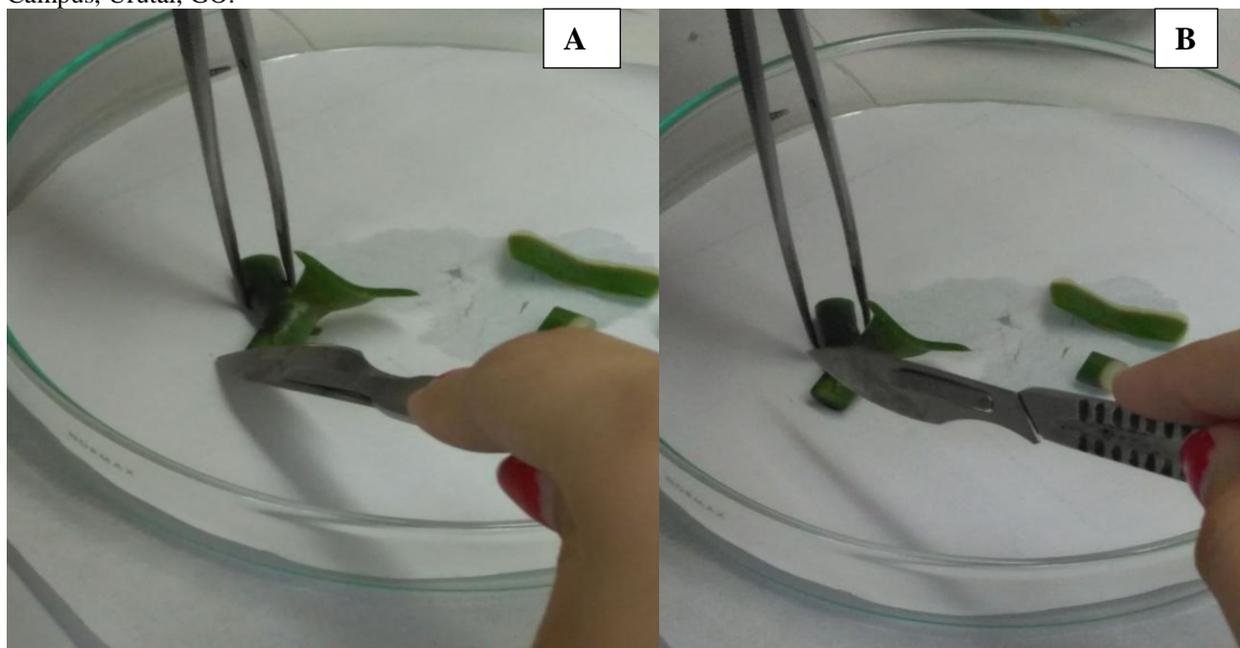
2.3. Assepsia

O material coletado foi separado e continha 4 segmentos nodais e das folhas foram cortadas 2/3. Os explantes, posteriormente foram encaminhadas a desinfestação antes do estabelecimento *in vitro*. A desinfestação para a limpeza dos explantes foi dividida em três partes: 1) lavagem com esponja e detergente por 5 minutos em seguida faz-se o enxague; 2) posterior a primeira lavagem, realizou-se os cortes dos segmentos nodais com aproximadamente 5 cm. Logo após, aqueles foram colocados em álcool 70% por um minuto e 3) finalizado com uso de hipoclorito 2,5% por 30 minutos sob agitação constante. Após a assepsia em hipoclorito, em câmara de fluxo laminar, o material vegetal foi enxaguado com água destilada e autoclavada por quatro vezes.

2.4 Estabelecimento *in vitro*

Após o enxague e em câmara de fluxo laminar (Figura 3), foi realizado cortes com bisturi para a limpeza de tecidos injuriados pela lavagem. Esse corte foi realizado em placa de *petri* contendo uma solução antioxidante elaborada com ácido ascórbico a 500 mg L^{-1} .

Figura 3. A, B) Redução de explante de *Vanilla* em câmara de fluxo laminar, para obtenção do segmento nodal a 3 cm e posterior inoculação *in vitro*. Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC) do Instituto Federal Goiano, Campus, Urutaí, GO.



Fonte: autores.

Os tratamentos foram compostos pelos meios de cultura Mrashige & Schoog (Anexo 1) com T0 (água, sacarose, ágar e carvão ativado); 100% (T1), 75% (T2), 50% (T3); 25% (T4) da concentração de macro e micronutrientes, acrescidos de 100 mg L^{-1} de meio-inositol⁻, Ágar-agar a $5,0 \text{ g L}^{-1}$ e sacarose a 30 g L^{-1} ; e o carvão ativado a $1,0 \text{ g L}^{-1}$. O pH foi alterado para 5,2.

A inoculação (Figura 4) ocorreu em frascos de vidro de 220 ml, contendo aproximadamente 30 ml de meio e vedados com tampas de polivipropileno (PVP) e uma camada de Insulfilm. Este procedimento foi realizado em câmara asséptica de fluxo laminar, para controle da assepsia.

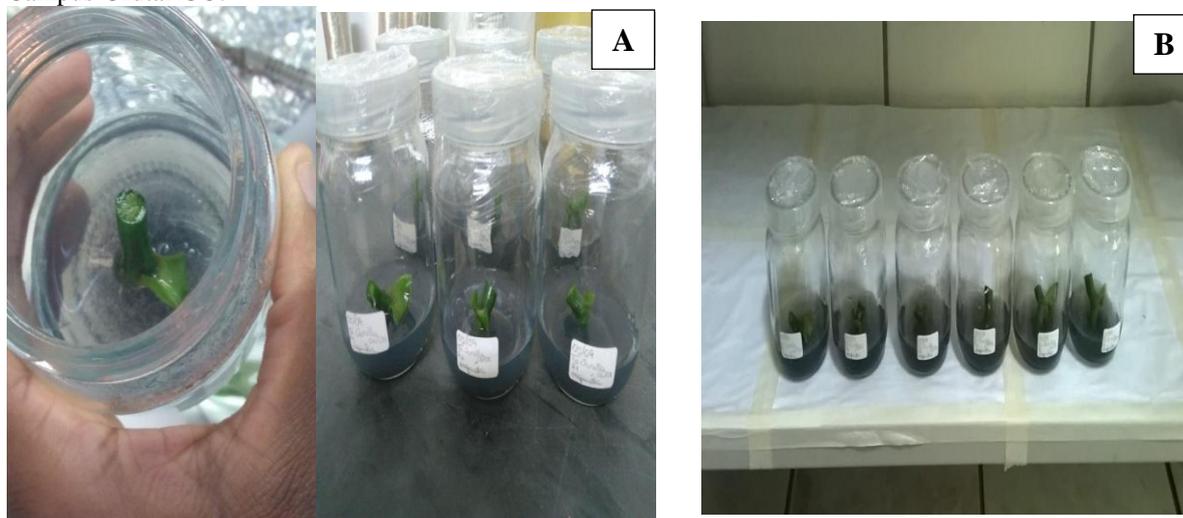
Figura 4. Trabalho de inoculação *in vitro* de *Vanilla* sendo realizado em câmara de fluxo laminar. Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC) do Instituto Federal Goiano, Campus, Urutaí, GO.



Fonte: autores.

Após a inoculação, os vidros foram deixados por uma semana em ambiente sem luz e temperatura de 17 °C (Figura 5 A e B). Após esse período, foram encaminhados à sala de crescimento com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e luminosidade de microMols de 40W com lâmpadas fluorescentes e foto período de 12 horas.

Figura 5. A) Segmento uninodal de orquídea, inoculado em meio de cultura. B) Frascos inoculados e em disposição na sala de crescimento. Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC) do Instituto Federal Goiano Campus-Urutai-GO.



Fonte: autores.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e 4 repetições, totalizando 4 frascos por tratamento. As aferições das variáveis foram semanalmente após a inoculação, as variáveis quantificadas foram: Taxa de contaminação (%); tipo de agente contaminante (%) e; Taxa de oxidação (%), Sobrevivência (%); Calos na base; Taxa de enraizamento e brotação.

Realizou-se a estatística descritiva para a obtenção da média entre as diferentes concentrações dos meios e valores de média geral, máximo, o mínimo, desvio padrão e coeficiente de variação dos tratamentos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

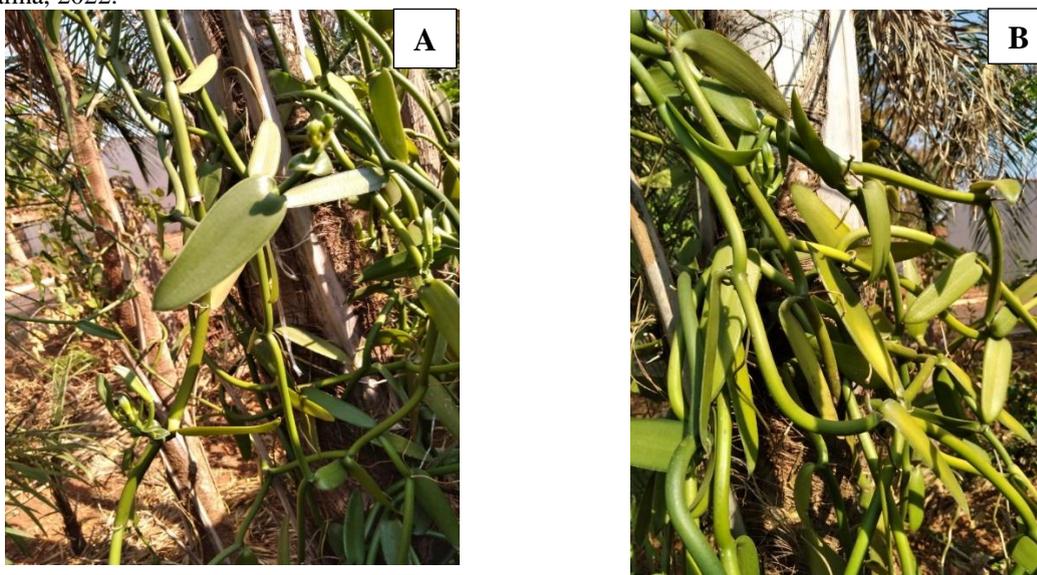
3.1. Caracterização

As plantas de orquídeas avaliadas apresentaram folhas com 3,0 centímetros de largura e 33,0 de comprimento (Figura 6A, 6B). Esses dados conduzem à hipótese sobre o processo adaptativo na região da *Vanilla* sp, e que podem ser introduzidas ao cultivo com chance de oferecer ao mercado consumidor alternativas de produção e diversidade, em relação espécie cultivada.

Além da beleza das flores dessa espécie, a baunilha como alimento é muito requisitada para aromatizar pratos para degustação. Nesse sentido Brumano (2019) salienta que através da Gastronomia e principalmente pelas mãos dos Chefs, foram “revelados” alguns frutos do Cerrado que até bem pouco tempo eram desconhecidos dos comerciais. Acredita-se que a

Baunilha do Cerrado tenha requisitos que a credenciam fazer parte deste rol de alimentos, contribuindo assim com sua produção e comercialização, para a promoção de uma agricultura verdadeiramente sustentável que valoriza não só o produto, mas, sobretudo o extrativista/produtor.

Figura 6. A, B) Orquídea com abundância em folhas, e em desenvolvimento vegetativo em ambiente doméstico. Pontalina, 2022.



Fonte: autores.

Do plantio até a floração foram aproximadamente de 24 a 36 meses. Dos quatro indivíduos avaliados, constatou-se cada planta apresentou quantidade diferentes de flores, variando número de zero a seis. Em cada metro observou-se até seis flores por planta, fecundada naturalmente.

As flores possuem conjunto de sépalas verdes e pétalas amarelo claro. Essas flores se mantiveram abertas por aproximadamente 10 horas durante o dia. De cada flor, seis foram fecundadas e geraram sementes. Essas sementes foram colhidas após nove meses. Os dados encontrados nesse estudo corroboram com o que relata Homma *et al.* (2002). Esses autores, ao avaliarem um estudo de caso na Amazônia brasileira com a orquídea de produtores de Tomé-Açu utilizam a variedade *Planifolia mexicana*, que foi introduzida pelo ex-Instituto Experimental Agrícola Tropical da Amazônia. Eles constataram que do plantio para a primeira floração leva 2 a 3 anos, e da floração para colheita leva em torno de 8 a 9 meses para colher. No período do inverno foi realizada a poda de formação, para dar início a floração no período de agosto a setembro. A colheita foi efetuada no período chuvoso, de abril a junho, mas pode apresentar variações dependendo da intensidade do período seco

No mesmo caule é possível constatar flor e fruto e folhas no mesmo período de ocorrência (Figuras 7, 8, 9, 10 e 11). As orquídeas sempre representaram um das ornamentais mais cobiçadas pelas pessoas, no Brasil e no mundo todo, devido a exuberância de suas flores perfeitas e suas cores delicadas. Por este motivo, muitas pessoas praticam o extrativismo, que consiste em retirada desordenada de orquídeas silvestres da mata tropical, conduzindo assim algumas espécies à beira da extinção. Ao se estudar e compreender os padrões de adaptação da espécie, é possível contribuir para a introdução ao cultivo consciente pelo manejo sustentável, ao mesmo tempo em que se promove a conservação e manutenção dessa planta tão importante.

Figura 7. Flor e fruto (vagem) ocorrendo simultaneamente em planta de *Vanilla*. Pontalina-GO. O processo de abertura das flores foi averiguado no decorrer do mês de setembro de 2021.



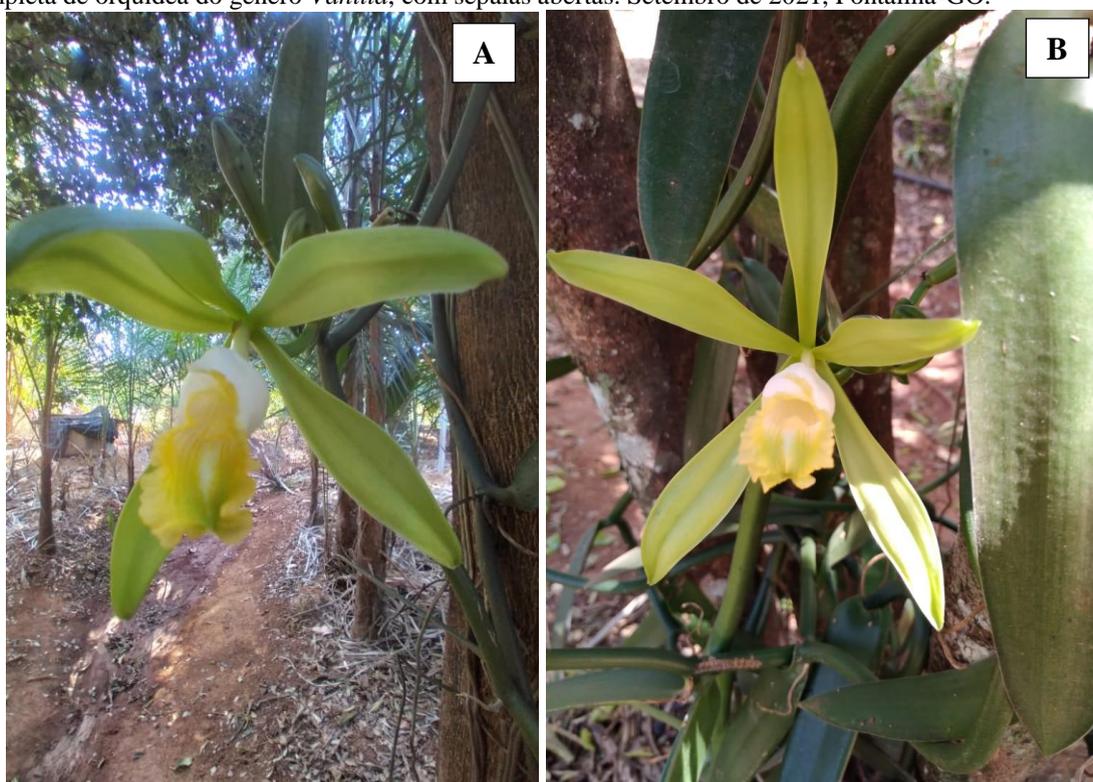
Fonte: autores.

Figura 8. A, B) Flor completa de orquídea do gênero *Vanilla*. Setembro de 2021. Pontalina-GO.



Fonte: autores.

Figura 9. A) Flor completa de orquídea do gênero *Vanilla*, com sépalas em processo de abertura. B) Flor completa de orquídea do gênero *Vanilla*, com sépalas abertas. Setembro de 2021, Pontalina-GO.



Fonte: autores.

Figura 10. Flor completa de orquídea do gênero *Vanilla*, com labelo em processo de abertura. Setembro de 2021. Pontalina-GO.



Fonte: autores.

Figura 11. A, B) Flor completa de orquídea do gênero *Vanilla*, com sépalas e labelo totalmente abertos. Setembro de 2021, Pontalina-GO.



Fonte: autores.

Em Stuttgart na Alemanha, dados sobre a biologia reprodutiva de Baunilha foram mapeados em uma filogenia para responder às perguntas sobre a evolução dos sistemas de polinização neste gênero (Pansarin *et al.*, 2022). *Vanilla palmarum* apresenta um sistema de

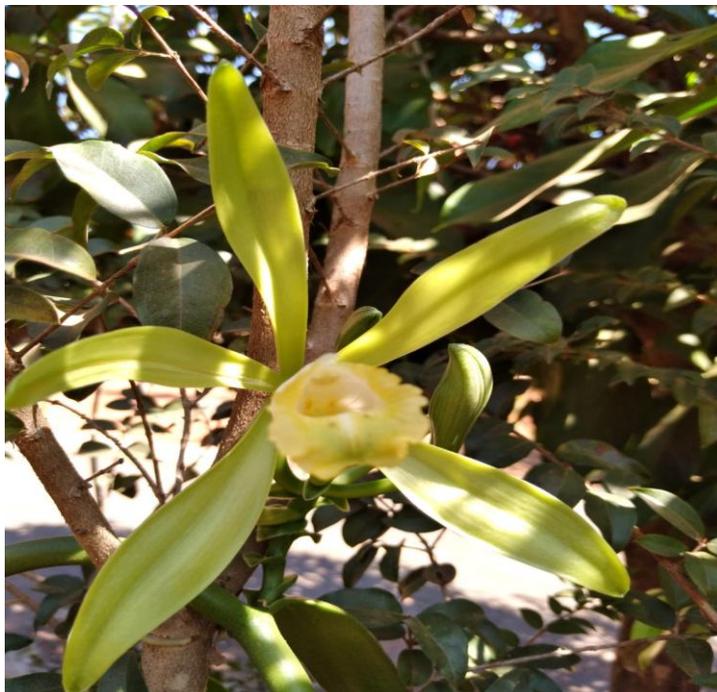
acasalamento misto, com suas flores autóгамas facultativas sendo polinizadas por beija-flores ou outros agentes (Figura 12). Suas flores amarelas são inodoras e produzem néctar (Figuras 13, 14). O mapeamento do sistema de polinização em árvores resultou em uma origem para polinização de aves e pelo menos duas origens para autogamia em *Vanilla*. A secreção de néctar tem origem única na linhagem neotropical de folhas grossas (Pansarin *et al.*, 2022).

Figura 12. Flor de *Vanilla*. Sendo visitada por possível polinizador.



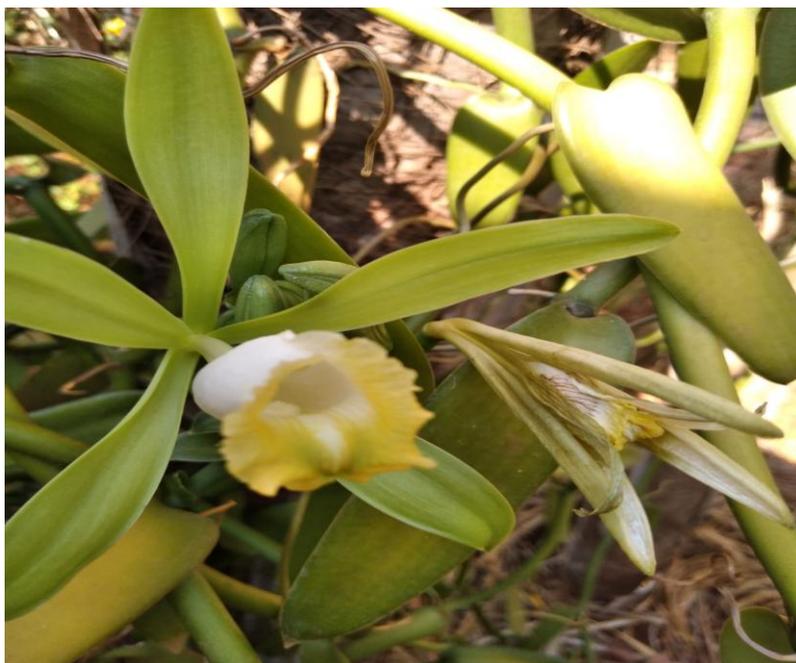
Fonte: autores.

Figura 13. Flor totalmente aberta e exuberante.



Fonte: autores.

Figura 14. Duas flores de orquídeas *Vanilla* em tempos diferentes de desenvolvimento.



Fonte: autores.

Os frutos (vagem) mediram 2,0 centímetros de diâmetro transversal e 12,0 centímetros de comprimento. Em cada metro do caule, constatou-se cinco folhas (Figura 15).

Figura 15. Vagem de orquídea em processo de desenvolvimento após polinização natural Flor.



Fonte: autores.

Das seis flores abertas, geraram seis frutos, todavia, três deles se abriram ainda na planta. Os outros seis foram coletados, enrolados em papel toalha úmido, armazenado em frascos de vidro de 300 ml e fechados. Logo após foram colocados na geladeira a 8°C conforme Figura 16A, 16B. Na Figura 16C é possível constatar um fruto com a casca totalmente escurecida, depois de cinco dias de colhida e em temperatura ambiente de aproximadamente 31,3°C, no período colhido.

Figura 16. A e B) Frutos no início do processo de escurecimento da casca e amadurecimento das sementes iniciado da base distal para a proximal do pedúnculo; C) Fruto com a casca totalmente escurecida. Pontalina, maio de 2022.



Fonte: autores.

Alguns frutos foram coletados em maio de 2021 e ficaram enrolados em papel toalha úmido, armazenado em frascos de vidro de 300 ml e fechados e armazenadas por 450 dias. Quando armazenada em temperatura baixa, observou-se que o processo de amadurecimento foi contínuo, porém de forma minimizada. O escurecimento da casca e a sementes é um indicativo de que o embrião pode estar viável. No entanto, novos estudos devem ser realizados para averiguação. As vagens quando abertas, apresentaram sementes de cor escura e odor agradável de baunilha (Figura 17).

Figura 17. Vagem com sementes totalmente maduras. A cor escura as sementes é uma característica dessa espécie. Pontalina, junho de 2022.



Fonte: autores.

3.2. Cultivo *in vitro*

Observa-se (Tabela 1) que houve a manifestação de agentes contaminantes em todos os tratamentos, com exceção da testemunha 0 (Água+Ágar+sacarose+C.A). Constatou-se que as maiores ocorrências sobreviveram nos meios com as maiores concentrações de sais. Tal fato se deve à disponibilidade nutrientes e que mesmo sendo realizada a assepsia, não foi possível e desinfecção dos explantes, ou a ocorrência de simbiose.

Tabela 1. Valores de média entre as diferentes concentrações dos meios e valores de média geral, máximo, o mínimo, desvio padrão e coeficiente de variação dos tratamentos para a taxa (%) das variáveis: oxidação (Ox.); Fungos (fung.); bactérias (bac.); Raízes (R.); Brotos (Br.); Calos na Base (C.B.); Sobrevivência (Sobrev.) para estabelecimento *in vitro* de *Vanilla* sp em diferentes concentrações de sais do meio de cultura Murashige & Schoog. Laboratório de Biotecnologia do Instituto Federal Goiano campus Urutá-GO, 2022.

Tratamentos (%)	Ox.	Fun.	Bac.	R.	Br.	C.B.	Sobrev.
0 (Água+Ágar+sacarose+C.A)	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0
1 (MS 100)	0,0	100,0	0,0	50,0	0,0	0,0	75,0
2 (MS 75)	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0
3 (MS 50)	0,0	75,0	0,0	0,0	0,0	0,0	75,0
4 (MS 25)	0,0	75,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Média Geral	0,0	70,0	0,0	30,0	0,0	0,0	70,0
Máximo	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0
Mínimo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
DP	0,0	41,1	0,0	44,7	0,0	0,0	41,1
CV (%)	0,0	5,9	0,0	14,9	0,0	0,0	5,9

Fonte: Elaborado pelos autores.

Na natureza, as orquídeas manifestam uma simbiose com fungos micorrizicos, no sentido de favorecer a germinação de suas sementes. Esse processo, se deu ao longo de anos e foi uma maneira de garantir a perpetuação da espécie, já que as sementes de orquídeas não possuem material de reserva que permitem aos embriões, a sua germinação (Araújo *et al.*, 2019). Como não foi observada a manifestação de agentes contaminantes no meio T0 mas a ocorrência em todos os demais meios enriquecidos com macro e micronutrientes, a hipótese é de que possa existir, algum tipo de relação ecológica entre a espécie estudada e os diferentes tipos fúngicos, em especial.

Para a taxa de raízes, observou-se de 100,0% a zero por cento (Tabela 1). No meio testemunha, esse evento esteve em 100,0% dos frascos quanto que no T1 foi de 50,0% e para os demais não houve ocorrência. Não houve brotações, bem como calos na base, no período avaliado. Todavia, é importante que novos estudos sejam balizados e que possam ser efetuadas lâminas com cortes dos explantes para a constatação de hifas ou esporos no material vegetal.

No presente estudo, ficou evidente que para o estabelecimento *in vitro* de explantes de *Vanilla* sp. obtidas no Cerrado, não é necessário a utilização de macro e micronutrientes. Nessa etapa de adaptação, essa orquídea conseguiu enraizar e sobreviver com meio de cultura com Água+Ágar+sacarose+C.A.

Ao se avaliar a taxa de sobrevivência, verifica-se que esteve presente em todos os tratamentos, exceto no T4. Os meios com diferentes concentrações de sais, podem proporcionar condições ideais de desenvolvimento e sobrevivências de fungos e bactérias. Nesse contexto, é possível que o aumento das massas de cepas e hifas tenham impedido a absorção de nutrientes e luz pelos explantes, o que pode ter levado à sua senescência, antes da emissão de raízes conforme visto no T0 e T1. Quanto as bactérias, não foi verificada ocorrência nos tratamentos.

A ocorrência de *Phoma* e *Rhizopus* foi verificada para o T1 e T4, respectivamente (Tabela 2). Percebe-se que dos agentes micológicos, o único gênero observado em mais de um tratamento foi o *Aspergillus*, conforme observado na Tabela 2.

Tabela 2. Identificação de agentes contaminantes em frascos de meio de cultura para estabelecimento *in vitro* de *Vanilla* sp, em diferentes concentrações de sais do meio de cultura Murashige & Schoog. Laboratório de Biotecnologia do Instituto Federal Goiano campus Urutaí-GO, 2022.

Meio de Cultura	Fungo	Bactéria
T0 00	-	0
T1 100	<i>Phoma</i>	0
T2 75	<i>Aspergillus</i>	0
T3 50	<i>Aspergillus</i>	0
T4 25	<i>Rhizopus</i>	0

Fonte: autores.

O gênero *Aspergillus* contatados nos tratamentos 3 e 4 pode causar muitos danos às ao material vegetal, pois é saprófito, causando principalmente a degradação de órgãos vegetais de armazenamento, proporcionando insucesso no estabelecimento de explantes e por

consequente, mudas sem qualidade. É interessante o estudo de estabelecimento de explantes de orquídeas *Vanilla* sp., para que se possam observar os processos inerentes à essa adaptação. Além disso o levantamento de dados nestas condições e que esses, possam servir de subsídios para novos estudos. A incidência e a identificação de agentes contaminantes desses agentes em orquídeas são importantes, este pode vir a ser um indicativo de processos simbióticos desenvolvidos por algumas espécies ao longo de sua evolução.

Figura 18. Orquídea inoculada *in vitro* e em sala de crescimento. Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC) do Instituto Federal Goiano, Campus, Urutaí, GO.



Fonte: autores.

4. CONCLUSÃO

Nas condições em que se realizou o experimento, é possível concluir que, na caracterização foi perceptível folhas com 3,0 centímetros de largura e 33,0 de comprimento, ademais em cada metro do caule, constatou-se cinco folhas. No que concerne ao plantio até a floração foram aproximadamente de 24 a 36 meses. De maneira que, cada planta apresentou quantidade diferentes de flores, variando número de zero a seis, assim em cada metro observou-se até seis flores por planta, fecundada naturalmente. Por fim, as flores se mantiveram abertas por aproximadamente 10 horas durante o dia e cada flor, seis foram fecundadas e geraram sementes. Sementes foram colhidas após nove meses. Em relação aos frutos (vagem), eles mediram 2,0 centímetros de diâmetro transversal e 12,0 centímetros de comprimento. Sendo que, as sementes podem ficar armazenadas até 450 dias.

No que concerne ao cultivo *in vitro*, estabeleceu-se que para o cultivo *in vitro* de *Vanilla* sp. coletadas no Cerrado, pode se usar o meio Água+Ágar+sacarose+carvão ativado, de forma que o agente de maior incidência foi *Aspergillus*. Sendo que o tratamento asséptico

foi eficiente. Ademias, também foi possível observar que, há possível ocorrência de simbiose entre o material vegetal e os agentes contaminantes em meios enriquecidos com macro e micronutrientes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, S. S.; MARQUES, L. M.; ARAÚJO, N. P.; DIAS, F. F.; MILANEZE-GUTIERRE, M. A. Fungos micorrízicos associados com orquídeas: a educação não formal a serviço do repasse de informações da biodiversidade brasileira Área Temática: Meio Ambiente. **Anais...**Disponível em: <http://www.eaex.uem.br/eaex2019/anais/artigos/84.pdf>. Acesso em: mai. de 2022.

BRUMANO, C. N. **A trajetória social da baunilha do cerrado na cidade de Goiás/GO.** Dissertação de Mestrado. 172 fls. Mestrado em Turismo na Universidade de Brasília, curso de pós-graduação Stricto Sensu em Turismo da Universidade de Brasília. 2019.

CID, L. P. B; TEIXEIRA, J. B. Explante, meio nutritivo, luz e temperatura. In: CID L. P. B. (Ed.). **Cultivo *in vitro* de plantas.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 15-49, 2010.

CONEXÃO CAPIXABA. IN: A Lavoura. Cultivo de baunilha se destaca em terra capixaba. Disponível em: <https://alavoura.com.br/agricultura/cultivares/cultivo-de-baunilha-se-destaca-em-terra-capixaba>. acesso em: jun. de 2022.

COSTA, M. V. C. G., BERTOLIN, D. C., CHABOLI, J. A., DO NASCIMENTO, D. P., SONEGO, A. D., BUENO, M. P., VERI, J. A., COSTA JUNIOR, J. G. Preliminary taxonomic survey of caterpillars in experimental culture of vanilla (*Vanilla planifolia*). **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 32967-32978, 2022.

Divakaran, M., Babu, K. N., Ravindran, P. N., Peter, K. V. Biotechnology for micropropagation and enhancing variations in Vanilla. **Asian J Plant Sci Res**, v. 5, n. 2, p. 52-62, 2015.

HOMMA, Alfredo Kingo Oyama. et al. **Cultivo de baunilha: uma alternativa para a agricultura familiar na Amazônia Belém, PA**: Embrapa Amazônia Oriental, 2006. 24p. : il.; 21cm. (Documentos/Embrapa Amazônia Oriental, ISSN 1517-2201, 254).

OLIVEIRA, R. T., OLIVEIRA, J. P. S., MACEDO, A. F. Vanilla beyond *Vanilla planifolia* and *Vanilla tahitensis*: Taxonomy and historical notes, reproductive biology, and metabolites. **Plants**, v. 11, n. 23, p. 3311, 2022.

PANSARIN, E. R.; FERREIRA, A. W. C.; REN, Z.-X. REN, Z.-X. Evolution of the pollination systems in *Vanilla*. Alma/SFX Local Collection. Plant biology (Stuttgart, Germany), 2022-01, Vol.24 (1), p.157-167

ROCHA, H. S. Biofábricas: estruturas físicas e organização. In JUNGHANS, T. G.: SOUZA, A. DA S. (Ed.). **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, p. 121-152, 2009.

RODRÍGUEZ-DEMÉNEGHI, M. V., RIVERA, N. A., GHENO-HEREDIA, Y. A., ARMAS-SILVA, A. A. Vanilla cultivation in Mexico: typology, characteristics, production, agroindustrial prospective and biotechnological innovations as a sustainability strategy. *Scientia Agricola*, n.1, v. 14, p. 93-109, 2023.

Anexos

Anexo 1. Composição do meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962).

Componentes	Fórmula	Concentração (mg.L⁻¹)
Macronutrientes		
Nitrato de amônio	NH ₄ NO ₃	1.650,00
Nitrato de potássio	KNO ₃	1.900,00
Cloreto de cálcio	CaCl ₂ .2H ₂ O	440,00
Sulfato de magnésio	MgSO ₄ .7H ₂ O	370,00
Fosfato de potássio	KH ₂ PO ₄	170,00
Sódio EDTA	Na ₂ EDTA	37,30
Sulfato de ferro	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,80
Micronutrientes		
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	6,20
Sulfato de manganês	MnSO ₄ .4H ₂ O	22,30
Sulfato de zinco	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,60
Iodeto de potássio	KI	0,83
Molibdato de sódio	NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,25
Sulfato de cobre	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025

Cloreto de cobalto	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025
Vitaminas		
Mio-inositol	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	100,00
Outros		
Sacarose	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	20,00
Ágar-ágar		3.500,00
pH		5,80