

## **Influência do carvão ativado no crescimento inicial e na aclimatização de plântulas de *Caularthron bicornutum* (ORCHIDACEAE) germinadas *in vitro***

Galdiano Júnior, Renato Fernandes<sup>1</sup>; Gomes, Elisângela Soares<sup>2</sup>; Lemos, Eliana Gertrudes de Macedo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (FCAV-UNESP), Via de Acesso Paulo Donato Castellane, s.n., CEP 14887-900, Jaboticabal, São Paulo, fone (16) 3209 2600, e-mail: [renatofgaldianojr@yahoo.com.br](mailto:renatofgaldianojr@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Aluna do curso de Graduação em Ciências Biológicas da FCAV-UNESP, Via de Acesso Paulo Donato Castellane, s.n., CEP 14887-900, Jaboticabal, São Paulo, fone (16) 3209 2600, e-mail: [trinkabio2005@yahoo.com.br](mailto:trinkabio2005@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Professora titular do Departamento de Tecnologia (FCAV-UNESP), Via de Acesso Paulo Donato Castellane, s.n., CEP 14887-900, Jaboticabal, São Paulo, fone (16) 3209 2675 ramal 217, e-mail: [egerle@fcav.unesp.br](mailto:egerle@fcav.unesp.br)

### **INTRODUÇÃO**

*Caularthron bicornuthum* é uma orquídeacea de porte médio e nativa da Amazônia (Estados de Amazonas, Mato Grosso, Pará, Rondônia e Roraima). Destaca-se pelo rápido crescimento até a fase adulta e distinta beleza de sua inflorescência, apresentando amplo potencial como planta ornamental (LUZ, 1998).

As orquídeas pertencem ao grupo de plantas que se caracteriza por apresentar segmentos do perianto muito semelhantes, e compõe a maior e mais altamente evoluída família de sua ordem (DRESSLER, 1981). Estimativas sugerem a existência de cerca de 25.000 espécies naturais, subdivididos em 600 a 800 gêneros (HEW e YONG, 1997). Possuem hábito terrestre, rupícola e a maior parcela é representada por espécies epífitas (cerca de 73% do total da família). Com adaptações eco-fisiológicas importantes no sistema radicular e no eixo caulinar, estas plantas atingiram um sucesso substancial na ocupação dos dosséis das florestas tropicais (BENZING, 1983).

Na natureza, a germinação e os primeiros estágios de desenvolvimento do embrião rudimentar das orquídeas são dependentes do estabelecimento de associações com fungos micorrízicos. Acredita-se que durante estes períodos estes embriões seriam heterotróficos e incapazes de utilizar carboidratos complexos (ERNST e ARDITTI, 1990).

As primeiras tentativas de cultivo assimiótico de orquídeas foram realizadas, com sucesso, por Lewis Knudson no início da década de 20, e proporcionaram pesquisas subseqüentes sobre a influência dos chamados “fatores de crescimento” (carboidratos, hormônios, vitaminas, aminoácidos, nutrientes minerais e luz, entre outros), sobre a germinação e crescimento inicial de suas plântulas. Desta forma, em muito se expandiu o comércio das espécies nativas e ornamentais, como também a produção de novos híbridos (VACIN e WENT, 1949).

Carvão ativado é preparado pela carbonização controlada da madeira em vapor ou ar, é utilizado comumente para adsorção de sólidos e gases. Trata-se de um pó de carvão finamente moído para aumentar a área de adsorção de partículas. Mesmo não sendo um regulador de crescimento, tem a capacidade de modificar o meio e, em algumas circunstâncias, melhorar ou regular o crescimento de plântulas *in vitro* (GEORGE, 1993). No entanto, pode induzir endogenia, alterar o pH, remover nutrientes orgânicos e reguladores de crescimento, inibir o crescimento e a morfogenia. O mesmo autor afirmou que a adição de carvão ativado (entre 1,0 a 2,0 g.L<sup>-1</sup>) pode estimular a germinação e o crescimento de orquídeas, principalmente em espécies que liberam substâncias fenólicas *in vitro*.

Plantas em condições *in vitro* estão em meio asséptico com carboidratos e reguladores de crescimento, elevada umidade relativa do ar, baixa irradiação e limitados potenciais osmóticos. Esses fatores contribuem para uma alta taxa de multiplicação, mas também induzem ao aparecimento de anormalidades anatômicas, morfológicas e fisiológicas, as quais interferem no estágio de transplante e aclimatização, causando baixa taxa de sobrevivência em condições *ex vitro* (CALDAS, 1998).

O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar os efeitos de diferentes doses de carvão ativado no crescimento de plântulas germinadas *in vitro* e posterior sobrevivência em condições *ex vitro* de *Caularthron bicornutum*, espécie de orquídea nativa do Brasil e de grande interesse para produção comercial.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Plantas da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, utilizando-se sementes de plantas oriundas do acervo do Orquidário da FCAV-UNESP. Cápsulas de sementes maduras foram desinfestadas no interior de câmara asséptica utilizando hipoclorito de sódio e etanol 70% (FARIA e STANCATO, 1998). Em seguida, as cápsulas foram abertas no sentido de sua deiscência e inoculadas em frascos de 280 mL contendo 40 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962). Após 60 dias, os protocormos foram inoculados em quatro tratamentos constituídos de meio MS com metade da concentração de macronutrientes e suplementados com quatro concentrações de carvão ativado (tratamento 1: 0 g.L<sup>-1</sup>, tratamento 2: 1 g.L<sup>-1</sup>, tratamento 3: 2 g.L<sup>-1</sup> e tratamento 4: 4 g.L<sup>-1</sup>).

Para cada tratamento, foram utilizados cinco frascos (repetições) contendo 10 plântulas cada, perfazendo um total de 200 plântulas distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado e incubadas em câmara de crescimento à temperatura de 25°C, sob iluminação artificial e fotoperíodo de 16 horas de luz durante 150 dias. Após esse período, as plântulas foram retiradas dos frascos e mensurado o número e comprimento da maior raiz, pesadas para análise da massa fresca da parte aérea e radicular juntas. Os dados obtidos foram analisados pelo método de Tukey a 5% de probabilidade e representados por meio de tabelas para avaliação do crescimento das plântulas. Esta fase foi chamada de estágio *in vitro*

Depois de mensuradas, as mudas foram transplantadas em bandejas de plástico e preenchidas com substrato a base de vermiculita e pó de xaxim (1:1 v/v) e então mantidas em casa de vegetação sob tela sombrite com 60% de retenção da irradiação luminosa. Os parâmetros avaliados 90 dias após o início do experimento de estágio *ex vitro* foram: número de plantas sobreviventes, número e comprimento de raízes, massa fresca e massa seca das plantas. Esta fase foi chamada de estágio *ex vitro*.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Estádio *in vitro*

Após 210 dias incubadas *in vitro*, as plântulas de *Caularthron bicornutum* apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos avaliados. Para a parte radicular, a adição de carvão ativado apresentou efeitos sinérgicos: o número de raízes foi maior nos tratamentos 2 e 3, enquanto o tratamento 4 obteve média de comprimento da maior raiz inferior até mesmo ao tratamento 1, e para a massa fresca total foi verificado maiores médias entre os tratamentos 2 e 3, respectivamente, e a menor obtida no tratamento 1 (tabela 1).

ARAUJO (2004), ao estudar o crescimento *in vitro* de *Laelia tenebrosa* também verificou que a adição de carvão ativado ao meio nutritivo em diferentes concentrações também pode trazer resultados contrastantes, sendo necessário ajustar a quantidade deste aditivo conforme a espécie Orchidaceae.

Para o comprimento da maior raiz, o tratamento controle (tratamento 1) apresentou-se mais eficaz. ZAIDAN (2002), observou que carvão ativado inibiu totalmente o enraizamento *in vitro* de mamoeiro (*Carica papaya*) em meio MS com a metade da concentração dos macronutrientes, sugerindo que este aditivo foi responsável por certa inibição do crescimento radicular em meio nutritivo.

Tabela 1. Valores de número de raízes, comprimento maior raiz (cm), massa fresca total (mg) e comprimento do maior bulbo (cm) de plântulas de *Caularthron bicornutum* 210 dias após a semeadura e cultivo *in vitro*. UNESP – FCAV, Jaboticabal – SP, 2007.

Caracteres avaliados	Tratamentos				C.V. (%)
	1	2	3	4	
Número de raízes	1,65AB	2,5A	1,9A	0,5B	43,13
Comprimento maior raiz (cm)	1,38A	1,28A	1,00AB	0,36B	37,8
Massa fresca total (mg)	22,95B	49,05A	50,95A	35,7AB	28,14
Comprimento maior bulbo (cm)	1,31B	1,96A	1,86A	1,82A	29,3

Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV = coeficiente de variação.

Para o crescimento aéreo, a adição de carvão ativado apresentou-se benéfica, sendo verificado plântulas mais tenras e vigorosas nos tratamentos suplementados (tratamentos 2, 3 e 4), obtendo a menor eficiência para o crescimento do maior pseudobulbo o tratamento 1. Por consequência, as maiores massas frescas totais (parte aérea e radicular) foram encontradas nos tratamentos 2 e 3 (tabela 1).

#### Estádio *ex vitro*

Após a fase de cultivo em casa de vegetação, as plântulas de *Caularthron bicornutum* apresentaram sensíveis diferenças entre os quatro tratamentos. O número de plantas sobreviventes foi menor nos tratamentos 1 e 4 (70% e 75%, respectivamente), e maiores entre os tratamentos 2 e 3 (100% e 90%, respectivamente). Para o número e comprimento da maior raiz, houve resposta significativa somente no tratamento 2, enquanto a massa fresca e massa seca foram significativamente superiores para os tratamentos 2 e 3.

Segundo COSTA (1998), um fator importante que contribui para a maior sobrevivência das plântulas submetidas às condições *ex vitro* refere-se a seu estado nutricional, bem como à proporcionalidade entre o sistema radicular e a parte aérea. Desta maneira, o tratamento 2 apresentou boa eficiência para o comprimento e massa fresca radicular, bem como massa fresca total, fatores que garantiram às plântulas deste tratamento o melhor desempenho na fase em casa de vegetação.

#### CONCLUSÕES

A adição de carvão ativado em meio de cultura MS com metade das concentrações de macronutrientes apresentou plântulas com massas frescas superiores após o cultivo *in vitro*, porém o mesmo aditivo contribuiu também para o menor crescimento radicular, obtendo assim respostas menos eficientes para a aclimatização nos tratamentos mais concentrados (tratamentos 3 e 4). Assim, o meio MS com metade das concentrações de macronutrientes acrescido de carvão ativado (1%) é o mais recomendado para a propagação (*in vitro*) e aclimatização (*ex vitro*) da orquídea *Caularthron bicornutum*.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, A.G. **Crescimento *in vitro* e aclimatização de plântulas de orquídea**. 2004, 80f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal de Lavra, Lavras, MG. 2004.

BENZING, D.H. Vascular epiphytes: a survey with special reference to their interactions with others organisms. In: SUTTON, S. T. Witmore T. C. & Chadwick, A. C. (Eds). **Tropical Rain Forest: Ecology and Management**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, p. 11-24, 1983.

CALDAS, L.S. et al. Meios Nutritivos e aclimatização. In: Torres, A. C. (Ed.). **Cultura de Tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa- SPI / Embrapa- CNPH, 1998, v. 1, p. 87-133.

COSTA, A.M.M. Fisiologia da aclimatização. In: TOMBOLATO, A.F.C.; COSTA, A.M.M. (Ed.). **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1998. p.63-67.

DRESSLER, R.L. **The orchids: natural history and classification**. Harvard: Harvard University Press. 1981. 332p.

ERNST, R.; ARDITTI, J. Carbohydrate physiology of orchid seedlings. III. Hydrolysis of maltooligosaccharides by *Phalaenopsis* (Orchidaceae) seedlings. **American Journal of Botany**, v. 77, p.188-195, 1990.

FARIA, R.T.; STANCATO, G.C. Orquídea – Semeadura. In: TOMBOLATO, A.F.C.; COSTA, A. M. M. **Boletim Técnico do Instituto Agrônomo de Campinas: micropropagação de plantas ornamentais**, 1998. v. 174, p.37.

GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture**, part 1 – the technology. 2. ed. Edington: Limited, 1993. 786 p.

HEW, C.S.; YOUNG, J.W.H. **The physiology of tropical orchids in relation to the industry**, Singapore: World Scientific, 331 p., 1997.

LUZ, F.J.F. **Orquídeas da amazônia**. São Paulo: Casa Amarela. 1998, p.25.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

VACIN, E.F.; WENT, F.W. Use of tomato juice in the asymbiotic germination of orchids seeds. **Botanical Gazette**, v.111, p.175-183, 1949

ZAIDAN, H.A. **Micropropagação e uso de marcadores moleculares na determinação do sexo do mamoeiro**. 2002, 166f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2002.

PALAVRAS CHAVE

Aclimatização; cultura *in vitro*; micropropagação; Orchidaceae.