

Cultivo *in vitro* do híbrido *Cattleya warneri* T. Moore Alba x *Laelia purpurata* Lindl var. *venosa* em meio nutritivo suplementado com a polpa de mamão verde e maduro na germinação de sementes e no desenvolvimento de orquídeas

Ricardo Hideaki Assakawa¹; Stela Lopes de Faria², Patrícia da Costa Zonetti³, Graciene de Souza Bido³

RESUMO: O cultivo de orquídea *in vitro* tem sido a melhor maneira de se conseguir uma muda com qualidade fitossanitária em curto período de tempo. Os diversos aditivos ou suplementos que são adicionados às formulações nutritivas utilizadas para o cultivo de células e tecidos vegetais *in vitro*, sempre com o objetivo de aumentar a qualidade e/ou o número das mudas produzidas. Este trabalho teve como objetivo verificar o efeito do uso de polpa de mamão (verde ou maduro) como suplemento nutritivo na germinação e desenvolvimento de orquídeas *in vitro*. Os tratamentos testados foram: T₁= "C" Knudson (Básico); T₂= "C" Knudson + Mamão Maduro (KMM); T₃= "C" Knudson + Mamão Verde (KMV); T₄= ágar + água destilada + sacarose + mamão maduro; T₅= ágar + água destilada + sacarose + mamão verde. O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente ao acaso com cinco repetições. Os dados foram analisados por análise de variância, e as médias entre tratamentos comparados pelo teste de Tukey a 5% de significância. Após 30 dias de germinação, os tratamentos T₁ e T₃ proporcionaram maior taxa de germinação. Após 120 dias de cultivo foram avaliados: a mortalidade, plântulas com e sem raízes, plântulas com e sem folhas. Os tratamentos que obtiveram melhores resultados quanto ao desenvolvimento de folhas, raízes e a baixa mortalidade foram os tratamentos que continham "C" Knudson suplementado de polpa de mamão maduro. O meio Básico (T₁) obteve maior taxa de crescimento de folhas. Os tratamentos que não apresentavam na composição "C" Knudson não obtiveram resultados satisfatórios.

PALAVRA-CHAVE: Carica papaya L. ; cultivo *in vitro*; meios nutritivos; orchidaceae.

1 INTRODUÇÃO

Segundo Silva (2003) o cultivo de orquídeas surgiram antes de Cristo, sendo denominadas pelos gregos *Orchis* e pelos chineses *Han* ou *Lan*, segundo o autor, Confúcio (551 – 479 a. C.) um filósofo chinês já mencionava em seus pergaminhos a utilização da orquídea como objetos de decoração em seu lar simbolizando a pureza, perfume e a graça. Antigamente os gregos e romanos utilizavam-se das orquídeas com finalidade medicinal, como estimulante da fertilidade em mulheres e da virilidade nos homens (ALZUGARAY E ALZUGARAY, 1983 citado por SILVA, 2003).

Pertencem à família Orchidaceae, sendo uma das maiores famílias fanerógamas, e taxonomicamente umas das mais evoluídas dentre as monocotiledôneas, com aproximadamente 800 gêneros, 35 mil espécies e mais de 100 mil híbridos, totalizando 7% das plantas ornamentais do mundo (PASQUAL et al., 2005).

¹ Acadêmicos do Curso de Ciências Biológicas. Departamento de Ciências Biológicas Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, Maringá – PR. ricsaca@oi.com.br

² Ex-acadêmica do Curso de Ciências Biológicas. Departamento de Ciências Biológicas Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, Maringá – PR stella.biologia@bol.com.br

³ Docentes do CESUMAR. Departamento de Ciências Biológicas do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, Maringá – PR. patriciazonetti@cesumar.com.br, graciene.bido@cesumar.br

Segundo Dressler (1983), as orquídeas são encontradas em quase toda a face global, desde o Ártico até os trópicos. No entanto, sendo de maior concentração nas regiões tropicais e subtropicais. As orquídeas podem habitar árvores e arbustos como epífitas, rupícolas, terrestres. Distúrbios causados pelo homem, como a devastação das florestas nativas, têm resultado no aumento do risco de extinção de diversas espécies, especialmente as orquídeas de hábitos epifíticos, cujo crescimento é lento, e dos milhões de sementes produzidas em cápsula, somente 5% germinam. Neste contexto, qualquer inovação no método de cultivo dessas espécies pode representar uma ferramenta importante para a produção de mudas em larga escala (GARCIA, 2006).

O cultivo em meio nutritivo, utilizando a técnica de cultura de tecidos, permite acelerar esse processo e elevar a taxa de germinação, tornando o processo de multiplicação de orquídeas viável (STANCATO; FARIA 1996 citados por MORAES et al., 2002).

O cultivo *in vitro* de sementes e o desenvolvimento inicial das plântulas obtidas de sementeira *in vitro* só foi possível com os trabalhos de Lewis Knudson em 1922, o qual propôs uma composição de um meio de cultura utilizando sais minerais (MILANEZE, 1997).

O sistema *in vitro* viabiliza a produção de plantas em uma velocidade superior ao crescimento normal, de forma que um elevado número de plantas pode ser reproduzido e com alta qualidade fitossanitária, independente da sazonalidade, sendo relevante do ponto de vista comercial (PUJALS, 2006).

Vários trabalhos têm sido desenvolvidos visando aperfeiçoar a sementeira *in vitro* de orquídeas. Meios alternativos têm sido propostos de forma a diminuir o custo de produção das mudas aliado a um desenvolvimento mais acelerado das mesmas. A composição dos meios de cultura, cujos componentes podem ser substituídos, em muitos casos, por frutas, legumes e açúcar de uso doméstico (CAMPOS, 2000). Segundo Saito (2006), a utilização de reguladores hormonais comerciais torna o custo mais elevado na produção de orquídeas "*in vitro*", e, para diminuir os custos dos mesmos, pode ser utilizada a polpa de tomate como fonte de regulador hormonal natural.

O uso de polpa de mamão no meio de cultura, surge na tentativa de diminuir o uso elementos minerais e de reguladores hormonais no cultivo *in vitro*. O fruto do mamão pode ser facilmente utilizado no meio de cultura, por que ser de fácil acesso, além de conter em sua composição diversos elementos nutritivos como carboidratos, proteínas, minerais e vitaminas (MORTON, 1987).

Com a finalidade de tornar as técnicas de multiplicação *in vitro* de orquídeas auto-sustentáveis e, assim, torná-las mais acessíveis e viáveis para um maior número de pessoas, o presente trabalho teve o objetivo avaliar a germinação de sementes e o desenvolvimento de plântulas de orquídeas sob influência do extrato bruto do fruto de mamão verde e maduro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas sementes do híbrido de *Cattleya warneri* T. Moore Alba X *Laelia purpurata* Lindl var venosa, sendo retiradas após a abertura do fruto maduro, resultante da polinização manual, e armazenada em geladeira. As sementes foram submetidas ao teste do tetrazólio a 1% para testar a viabilidade das mesmas.

O meio de cultura utilizado para inocular as sementes foi o meio de cultura básica "C" Knudson (MILANEZE, 1997), contendo nitrato de cálcio, fosfato de potássio, manganês, cálcio, ferro, sulfato de amônio, Agar e sacarose associado ou não à polpa de mamão sem as sementes, sendo triturada em liquidificador na proporção de 50g/L. O pH inicial do meio de cultura foi ajustado em 5.5. O meio de cultura foi esterilizado em autoclave vertical, por 20 minutos a 1atm, posteriormente foi distribuído em frascos de

100ml, no fluxo laminar, sendo que cada frasco recebeu em torno de 30mL de meio de cultura.

Os tratamentos utilizados foram: T₁="C" Knudson (básico); T₂="C" Knudson + 50g/L de mamão maduro; T₃="C" Knudson + 50g/L polpa de mamão verde; T₄= agar + água destilada + sacarose + 50g/L polpa de mamão maduro; T₅= agar + água destilada + sacaore + 50g/L polpa de mamão verde. Sendo que, para cada tratamento foram utilizadas 5 repetições.

O cultivo foi realizado em estantes abertas, em sala não climatizadas do Laboratório de Botânica do Centro Universitário de Maringá – Cesumar, sob luminosidade constante (24h/luz) de 1.500lux fornecidas por lâmpadas fluorescentes branca-fria, e sob variações de temperaturas não controladas.

Após 30 dias da semeadura, foi contabilizado o número de protocormos vivos e mortos. E após 120 dias de cultivo, foram contabilizados quanto ao número de plântulas mortas, número de plântulas com raiz ou sem raiz, e o número de plântulas com folhas e sem folhas. Os dados foram analisados por análise de variância, e as médias entre tratamentos comparados pelo teste de Tukey a 5% de significância.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ensaio de germinação verificou-se que os meios que promoveram maiores porcentagens de protocormos vivos foram os tratamentos: Básico ("C" Knudson) e o KMM ("C" Knudson + Mamão Verde), sem diferença estatística entre os dois meios nutritivos. Os meios que ocasionaram menores porcentagens de protocormos vivos e os maiores em porcentagem de protocormos mortos foram os tratamentos que continha em seu meio nutritivo mamão maduro (T₂ e T₄) (Tabela 1).

Tabela 1. Porcentagem de protocormos vivos e mortos de *Cattleya warneri* T. Moore Alba x *Laelia purpurata* Lindl var. venosa após 30 dias em diferentes meios nutritivos.

Tratamentos	Protocormos Vivos (%)	Protocormos Mortos (%)
T ₁ =BÁSICO	58,15 a	41,83 c
T ₂ =KMM	4,73 c	95,27 a
T ₃ =KMM	54,21 a	45,78 c
T ₄ =AMM	7,53 c	92,95 a
T ₅ =AMV	46,11 b	53,78 b

*Letra diferentes dentro de coluna representam tratamentos diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

*Meios Nutritivos: T₁= BÁSICO ("C" Knudson); T₂= KMM ("C" Knudson + Mamão Maduro); T₃= KMM ("C" Knudson + Mamão Verde); T₄= AMM (ágar+Sacarose+Água+Mamão Maduro); T₅= AMV (ágar+Sacarose+Água+Mamão Verde).

Após 120 dias de cultivo, o meio que proporcionou maior taxa de mortalidade das plântulas foi o meio nutritivo "C" Knudson acrescentado de polpa de Mamão verde com aproximadamente 23,3% de plântulas mortas. O meio "C" Knudson acrescentado de Mamão maduro proporcionou menor mortalidade das plântulas, em média 7,9% (Figura 1). A diferença entre os trabalhos com mamão verde e maduro pode ter sido dado ao alto teor de açúcar presente no mamão maduro, podendo assim, causar maior taxa de sobrevivência devido ao açúcar presente no mamão já amadurecido.

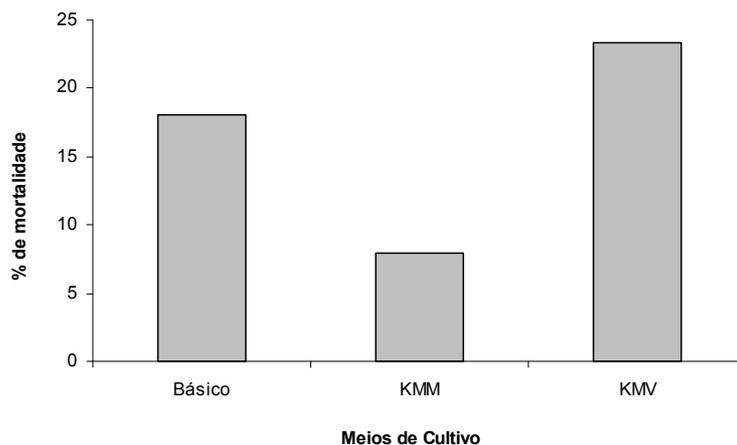


Figura 1. Porcentagem de mortalidade plântulas do híbrido *Cattleya warneri* T. Moore alba x *Laelia purpurata* Lindl. var. venosa em diferentes meios de cultivo após 120 dias de germinação. Meio BÁSICO: "C" Knudson. KMM = "C" Knudson + Mamão maduro. KMV = "C" Knudson + Mamão verde.

Nas características de crescimento observadas, pode-se verificar que no tratamento de "C" Knudson acrescentado de mamão maduro proporcionou maior número de plântulas sem folhas, aproximadamente 31,7%, enquanto que, no meio Básico, as plântulas sem folhas ficaram em torno de 11,2%. No meio "C" Knudson acrescentado de mamão verde as plântulas apresentaram em média de 23,28% sem folhas. Desta forma o tratamento de controle o meio Básico, obteve a maior porcentagem de plântulas com folhas. Embora o uso de polpa de mamão tenha sido bom para sobrevivência das plântulas o mesmo não proporcionou bom desenvolvimento das folhas.

No caso do desenvolvimento do sistema radicular, os meios acrescentados de mamão foram os que promoveram mais números de raízes. Sendo 70,6% de plântulas com raízes no meio com polpa de mamão maduro e 72,6% de plântulas com raízes no meio com mamão verde.

Observando as plântulas com raízes, no mesmo período o meio nutritivo "C" Knudson acrescentado de mamão maduro proporcionou em seu desenvolvimento maior proporção de raiz com 17,4%, enquanto que, o meio "C" Knudson acrescentado de mamão verde obteve apenas 4,1% de crescimento de raiz.

4 CONCLUSÃO

Após 30 dias de cultivo na fase de germinação, os meios que obtiveram melhores resultados foram o meio de controle (Básico) e meio contendo "C" Knudson acrescentado de Mamão verde (KMV). Para a fase de desenvolvimento o meio de cultivo que se mostrou melhor quanto a desenvolvimento de raiz, folhas e com pouca mortalidade foi o meio Knudson "C" acrescentado de Mamão maduro (KMM).

REFERÊNCIAS

CAMPOS, D. M. **Orquídeas**: manual prático de reprodução. Expressão e Cultura, Rio de Janeiro, 2000, 127p.

DRESSLER, R. L. **Phylogeny and classification of the orchid family**. Portland: Dioscorides Press, 1983.

GARCIA, A M. B. et al. **Influência do grau de maturação da banana nanica sobre o desenvolvimento inicial, *in vitro*, das plântulas de *Encyclia* sp (ORCHIDACEAE): resultados preliminares**. In: XXI Semana da Biologia VIII Encontro Maringaense de Biologia, 2006, Universidade Estadual de Maringá – UEM. **Resumo...** Maringá, Museu Dinâmico interdisciplinar da UEM. p. 58-59.

MILANEZE, M. A. **Estudos em orquídeas nativas do Brasil: Morfologia de sementes e cultivo assimiótico**. Rio Claro, 234 p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Instituto de Biociência, Universidade Estadual Paulista. 1997.

MORAES, L. M.; CAVALVANTE, L. C. D.; FARIA, R. T. **Substratos para aclimatização de *Dendrobium nobile* Lindl.(Orchidaceae) propagadas *in vitro***. Acta Scientiarum, Maringá, v. 24,n.5, p. 1397-1400, 2002.

MORTON, J. F. **Papaya**. In: **Fruits of warm climates**. p.336-346. Maimi, FL, 1987. Disponível em: <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/papaya_ars.html>. Acesso em 01 de junho de 2007.

PASQUAL, M.; ARAUJO, A. G.; RODRIGUES, V. A.; OLIVEIRA, A. C. Cultivo de orquídeas. **Informe agropecuário**. Belo Horizonte, v. 26, n. 227, p. 85-94, 2005.

PUJALS, A. et al. **Substrato alternativo ao xaxim [*Diksonia sellowiana* (PRESL.) Hook] para aclimatização de plântulas de *Encyclia randii* (Barb. Rodr.) Porto & Brade (Ochidaceae)**. In: XXI Semana da Biologia VIII Encontro Maringaense de Biologia, 2006, Universidade Estadual de Maringá – UEM. **Resumo...** Maringá, Museu Dinâmico interdisciplinar da UEM. p.38-39.

SAITO, B. C. **Influência da polpa de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) no desenvolvimento de plântulas do híbrido de *Laelia purpurata* Lindl var *venosa* X *Cattleya warneri* T. Moore Alba**. 2006. 20p. Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Centro Universitário de Maringá, Maringá, Paraná.

SILVA, E. F. **Multiplicação e crescimento *in vitro* de orquídea *Brassiocattleya Pastoral* x *Laeliocattleya Amber Glow***. 2003. 62p. Dissertação de Mestrado do Programa de pós-graduação em Agronomia da Universidade Federal de Lavras.