

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CARVÃO ATIVADO NO CRESCIMENTO E ENRAIZAMENTO *in vitro* DE *Cattleya pumila* HOOK

Renata Rossi Guson*

Cristiano Pedroso de Moraes**

Cíntia Cristina Ronconi***

RESUMO: *Cattleya pumila* é uma espécie endêmica do Brasil de pequeno porte e de grande valor ornamental, apresentando-se como um exemplo de orquídea de fácil germinação *in vitro*, porém com baixa taxa de enraizamento. Assim, o presente trabalho teve por objetivo analisar os efeitos de duas concentrações e da ausência de carvão ativado em meio de cultivo Kyoto, em relação ao crescimento e enraizamento da espécie. Plântulas oriundas de cultura de tecidos foram inoculadas em 30 frascos de 250 mL de capacidade contendo 50 mL de meio de cultura, contabilizando-se 10 frascos para cada tratamento. Estas foram avaliadas aos 35, 50, 65 e 80 dias de cultivo *in vitro* de forma aleatória e em 50% das amostras. A partir dos resultados obtidos relacionados ao crescimento das raízes, folhas, plântulas inteiras e peso da matéria fresca foram realizadas regressões lineares, as quais demonstraram que o meio de cultivo suplementado com 1 g L⁻¹ de carvão ativado apresentou o maior incremento para a variável comprimento da maior raiz, enquanto a suplementação com 3 g L⁻¹ apresentou os melhores resultados para as demais variáveis analisadas.

PALAVRAS-CHAVE: Orchidaceae. Sistema Radicular. Cultura Assimbiótica.

INFLUENCE OF DIFFERENT CONCENTRATIONS OF ACTIVATED CHARCOAL IN THE *in vitro* GROWTH AND ROOTING OF *Cattleya pumila* HOOK

* Discente de Iniciação Científica da Universidade Paulista – Unip. E-mail: reguson@alunos.unip.br

** Docente Doutor em Biologia Vegetal no Centro Universitário Hermínio Ometto – Uniararas. E-mail: pedroso@uniararas.br

*** Bióloga e Orquídoca. E-mail: cinthiaron@hotmail.com

ABSTRACT: *Cattleya pumila*, a small ornamental endemic species in Brazil, is an orchid with easy in vitro germination but low rooting rates. Current analysis investigates the effects of the absence of activated charcoal and the presence of two concentrations of the same in the Kyoto culture medium on the species's growth and rooting. Plants derived from tissue culture were inoculated in thirty 250 mL flasks with 50 mL of the culture medium, with 10 flasks for each treatment. They were evaluated randomly after 35, 50, 65 and 80 days of in vitro culture and in 50% of the samples. Results related to growth of roots, leaves, whole plants and weight of fresh matter were employed for the calculations of linear regressions. Results showed that the culture medium supplemented by 1 g L⁻¹ of activated charcoal had the greatest increase for the variable root length, whereas the culture medium supplemented by 3 g L⁻¹ had the best results for the other variables analyzed.

KEYWORDS: Orchidaceae; Root System; Asymbiotic Culture.

INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae constitui-se como a maior dentre as Angiospermas (SOUZA; LORENZI, 2008), apresentando nos trópicos representantes principalmente rupícolas e epífitos e, nas regiões temperadas, em geral, indivíduos terrestres (PRIDGEON et al., 2009). Ainda, apresenta-se altamente diversificada no que tange a adaptações morfofisiológicas relacionadas à conquista de variados *habitats*, o que lhes permitiu uma distribuição cosmopolita, comprovada por seus 780 gêneros e 25.000 espécies atuais (PRIDGEON et al., 2009), excluindo híbridos artificiais (CUNHA et al., 2011).

Para o Brasil já foram identificadas mais de 3.500 espécies de orquídeas, porém muitas destas estão correndo risco de extinção devido à destruição de seus *habitats* e às coletas predatórias (UNEMOTO et al., 2007). Os principais gêneros possuidores de espécies de valor comercial que se encontram atualmente sofrendo extrativismo e que se apresentam altamente valorizados em termos comerciais são: *Cattleya*, *Catasetum*, *Epidendrum* e *Oncidium* (JOLY, 1998; MORAES; ALMEIDA, 2004; MASSARO et al., 2012; PEDROSO-DE-MORAES et al., 2007; PEDROSO-DE-MORAES et al., 2009a, 2009b).

Comercialmente, o cultivo de espécies do gênero *Cattleya* é de grande importância para o agronegócio florícola mundial devido, principalmente, à ampla capacidade de recombinação genética, beleza, forma, tamanho e durabilidade de suas flores (CUNHA et al., 2011; PEDROSO-DE-MORAES et al., 2009a, 2009b; ZANENGA-GODOY; COSTA, 2003).

Outrora incluída no gênero *Laelia* e, agora, recentemente inserida em *Cattleya* (VAN DEN BERG, 2008), a espécie nativa *Cattleya pumila* Hook constitui planta de pequeno porte de grande valor ornamental, sendo comercializada na faixa de U\$35.00 a U\$50.00 (SANTA BARBARA ORCHID STATE, 2011). Tais valores devem-se ao fato da baixa taxa de enraizamento *in vitro*, mesmo com a espécie apresentando sementes com alto vigor germinativo (PEDROSO-DE-MORAES, 2000). A espécie cresce nos estados de Minas Gerais, onde se encontra em perigo de extinção (BIODIVERSITAS, 1997) e Espírito Santo, em florestas abertas com árvores perto de cursos de água e altitudes de 600-1300m. Morfologicamente, a planta apresenta aproximadamente 15 cm de altura, sendo caracterizada por apresentar pseudobulbos ovoides com espaçamentos de 1 cm em relação ao eixo caulinar formado pelo rizoma. Suas flores apresentam em média 9 cm de diâmetro (WITHNER, 1988; BAKER; BAKER, 2011).

Técnicas como a cultura de tecidos têm auxiliado na preservação de espécies de orquídeas, mas ainda é necessário o desenvolvimento de pesquisas que viabilizem o uso da propagação *in vitro* para a produção em grande escala de espécies e variedades raras em vias de extinção, ou de qualquer outra orquídea de interesse ecológico ou econômico (CARVALHO, 2008). Os meios utilizados em cultura de células e tecidos apresentam em sua constituição básica as seguintes substâncias: reguladores vegetais, carboidratos, vitaminas e diferenciados sais minerais (PEDROSO-DE-MORAES, 2000, PEDROSO-DE-MORAES et al., 2009b), elementos estes de grande importância no desenvolvimento de plântulas.

Vários são os relatos na literatura sobre o sucesso dessa forma de propagação para várias espécies e híbridos de orquídeas submetidos a meios de cultivo simplificados e conseqüentemente de menor custo (CUNHA et al., 2011; MASSARO et al., 2012; PEDROSO-DE-MORAES et al., 2009a, 2009b;

UNEMOTO et al., 2007;), dentre eles o meio de cultivo Kyoto (KANO, 1965). Tal meio caracteriza-se por apresentar a mesma formulação do fertilizante Hyponex® modificado pela suplementação com 5,0 g.L⁻¹ de tiamina, 100 g.L⁻¹ de polpa de banana verde e 75 ml de água de coco verde, porém, sem a adição de micronutrientes.

O fertilizante Hyponex® (NPK 6,5-9-19), como base para meios de cultivo, tem sido estudado recentemente em orquídeas nacionais, tendo apresentado diversos resultados em relação às variáveis biométricas analisadas para diferentes espécies da família (CUNHA et al., 2011; MASSARO et al., 2012; PEDROSO-DE-MORAES et al., 2009a, 2009b), sendo tal diversidade relacionada com o hábito de crescimento de tais plantas (MASSARO et al., 2012). O uso deste fertilizante permitiu o incremento das variáveis número de raízes para a espécie *Cattleya loddigesii* (PEDROSO-DE-MORAES et al., 2009a) e para comprimento da maior raiz, comprimento da maior folha e peso da massa seca (PEDROSO-DE-MORAES et al., 2009b) para *Cattleya tigrina*, quando comparado aos meios MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e ao meio à base de fertilizante Kristalon laranja® (NPK 6-12-36).

Assim, o presente trabalho teve por objetivo analisar os efeitos da ausência e de duas concentrações de carvão ativado em meio Kyoto (KANO, 1965) no desenvolvimento e enraizamento de plântulas de *Cattleya pumila* visando à otimização da produção de mudas da espécie.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Orquidário Biorchids Ltda, município de Várzea Paulista, SP.

Para a realização do trabalho, foram utilizadas plântulas provenientes de cultura de tecidos com 1,0 cm de comprimento cada (caracterizadas por apresentarem somente parte aérea formada por estrutura caulinar de aproximadamente 0,3 cm e folhas de 0,7 cm de comprimento) cultivadas previamente em meio Kyoto (KANO, 1965) suplementando com 5,0 g L⁻¹ de

tiamina, 100 g L⁻¹ de polpa de banana verde, 75 mL de água de coco verde e 1,0 g L⁻¹ de carvão ativado.

Para a análise dos efeitos de diferentes concentrações de carvão, novos meios de cultivo Kyoto (KANO, 1965) foram preparados e suplementados com as seguintes concentrações de carvão ativado: 1,0 e 3,0 g L⁻¹ e sua ausência (0 g L⁻¹) sendo o pH ajustado para 5,7 antes da autoclavagem. Logo após, 50 mL de cada meio de cultura foram vertidos para 10 frascos de 250 mL por tratamento e esterilizados em autoclave a 121°C e 1 atm de pressão durante 20 minutos (ARDITTI; ERNEST, 1992).

Foram inoculadas oito plântulas por frasco por tratamento, sendo que, após a inoculação, estas permaneceram sob condições assépticas em sala de crescimento, submetidas à fotoperíodo de 16 horas com intensidade luminosa de aproximadamente 116 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e temperatura de 25±1°C. A primeira avaliação foi feita 35 dias após a inoculação e as três seguintes após 15 dias subsequentemente. Foram sorteados aleatoriamente para cada avaliação dois frascos de cada concentração de carvão ativado e retiradas todas as plântulas para análise das variáveis biométricas: altura das plântulas (AP), comprimento da maior raiz (CMR), comprimento da maior folha (CMF) e peso da massa seca da plântula inteira (PMS) (CUNHA et al., 2011; PEDROSO-DE-MORAES et al., 2009a), sendo para este procedimento utilizado paquímetro digital (Digimess 100A) e balança analítica (Gehaka BG 400) (PEDROSO-DE-MORAES et al., 2009b). Os resultados foram submetidos à análise de regressão linear utilizando-se o aplicativo estatístico BioEstat 5® (AYRES et al., 2004).

3 RESULTADOS

O meio Kyoto (KANO, 1965) suplementado com 5,0 g L⁻¹ de tiamina, 100 g L⁻¹ de polpa de banana verde, 75 ml de água de coco verde e 3,0 g L⁻¹ de carvão ativado, apresentou fortes correlações para as variáveis biométricas, altura das plântulas (AP) ($R^2 = 0,947$, $p < 0,05$), comprimento da maior folha (CMF) ($R^2 = 0,999$, $p < 0,05$) e peso da massa fresca (PMF) ($R^2 = 0,814$, p

$< 0,05$) (Figura 1A, C-D), enquanto o meio acrescido de $1,0 \text{ g L}^{-1}$ de carvão apresentou forte correlação para comprimento da maior raiz (CMR) ($R^2 = 0,97$, $p < 0,05$) (Figura 1B). Assim, as análises realizadas durante o ensaio permitiram as seguintes constatações:

Durante a primeira avaliação realizada aos 35 dias de cultivo observou-se que o meio de cultivo com ausência de carvão ativado apresentou média de crescimento radicular 2% maior em relação ao meio de cultivo suplementado com $1,0 \text{ g L}^{-1}$ de carvão ativado, porém nas avaliações seguintes as plântulas cultivadas neste meio de cultura não apresentaram desempenho inferior em todos os parâmetros avaliados (Figura 1).

Com relação à segunda avaliação, realizada aos 50 dias de cultivo, observou-se que a suplementação do meio de cultura com $3,0 \text{ g L}^{-1}$ de carvão ativado, proporcionou as melhores médias para todas as variáveis. O meio suplementado com $1,0 \text{ g L}^{-1}$ de carvão apresentou incremento nas variáveis: altura total das plântulas (AP) e comprimento da maior raiz (CMR) comparado à avaliação anterior, porém não apresentou aumento na variável comprimento da maior folha (CMF) e peso de massa fresca da plântula inteira (PMF) (Figura 1). Na terceira avaliação aos 65 dias de cultivo, o meio suplementado com $1,0 \text{ g L}^{-1}$ de carvão ativado apresentou maior crescimento de raízes; porém, plântulas cultivadas em meio de cultura suplementado com $3,0 \text{ g L}^{-1}$ apresentaram maior PMF e CMR quando comparado com o meio acrescido de $1,0 \text{ g L}^{-1}$ de carvão (Figura 1).

Após 80 dias de cultivo *in vitro* para o CMR não houve diferença significativa entre os meios de cultivo suplementados com $1,0 \text{ g L}^{-1}$ e $3,0 \text{ g L}^{-1}$ de carvão ativado. Entretanto, observou-se que, na presença de $3,0 \text{ g L}^{-1}$ de carvão, houve melhor desempenho para as variáveis AP, CMF e PMF (Figura 1).

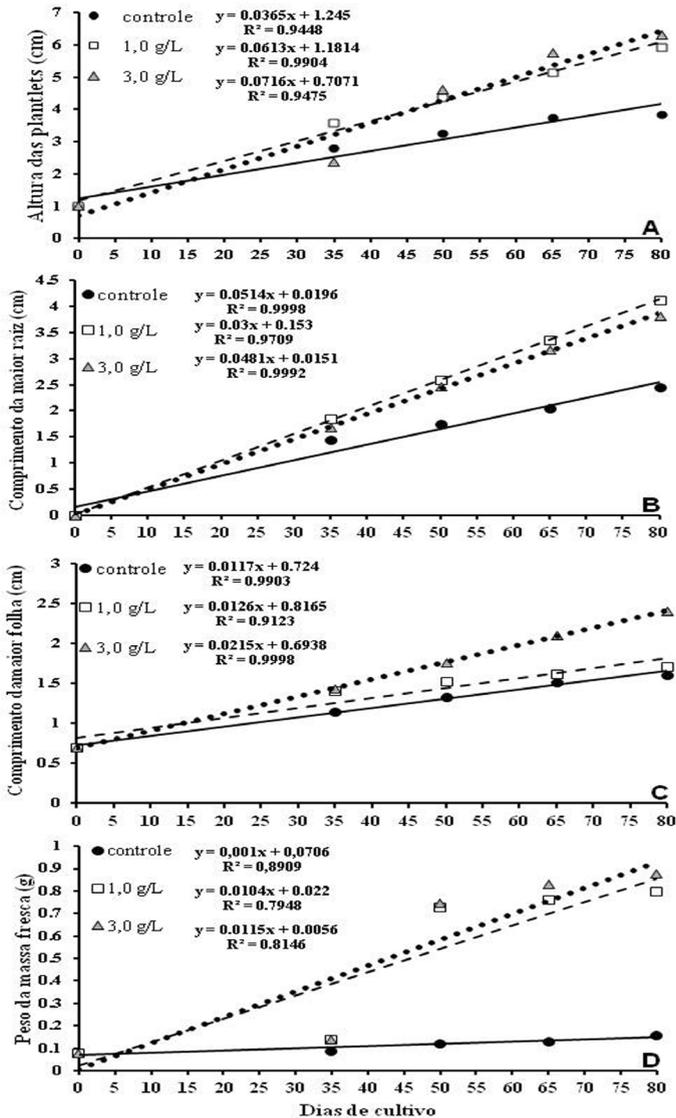


Figura 1. Regressões lineares realizadas em plântulas de *Cattleya pumila* cultivadas *in vitro* com diferentes concentrações de carvão ativado por 35, 50, 65 e 80 dias. Variáveis biométricas analisadas: altura das plântulas (A), comprimento da maior raiz (B), comprimento da maior folha, (C) e peso da massa fresca (D).

Neste período de avaliação ocorreu o surgimento de brotos em 50% das amostras do meio suplementado com 3,0 g L⁻¹ de carvão ativado e menos de 10% do meio de cultivo suplementado com 1,0 g L⁻¹, o que influenciou sobremaneira na diferença encontrada para a variável PMF para as plântulas dos dois tratamentos (Figura 1).

4 DISCUSSÃO

O uso de substâncias como polpa de banana, água de coco, vitaminas e carvão ativado tem auxiliado no desenvolvimento de protocolos apropriados, simplificados e de fácil execução para diversas espécies de orquídeas (PEDROSO-DE-MORAES, 2000). O endosperma do coco verde, além de apresentar-se rico em elementos minerais facilmente assimiláveis pelas plântulas, ainda contém fitormônios que auxiliam na proliferação celular, pois estimulam citocineses nos primeiros estádios da cultura de tecidos (PEDROSO-DE-MORAES et al., 2009b). Ainda, a adição de tiamina (Vitamina B1) ao meio de cultura, promove crescimento radicular (COUTINHO, 1993). Assim, vale ressaltar que a suplementação do meio Kyoto (KANO, 1965) com água de coco, polpa de banana e tiamina contribuiu para o crescimento das plântulas neste trabalho; entretanto, como demonstrado nas regressões lineares realizadas, à presença do carvão ativado ainda mostrou-se como a substância mais efetiva nos resultados obtidos.

Várias pesquisas relacionadas à regeneração *in vitro* de orquídeas apontam para a necessidade do desenvolvimento de amplo sistema radicular em plântulas (SINGHA; OBERLY; TOWNSEND, 1987), uma vez que estes, não apenas desempenham uma variedade de funções cruciais para a sobrevivência da planta, como também ocupam um espaço muito maior que a parte aérea (PEDROSO-DE-MORAES, 2000).

Plântulas absorvem em meios de cultivo elementos minerais nem sempre essenciais à sua vida, possuindo uma capacidade de absorção seletiva limitada (KERBAUY, 2004), influenciada pela acidificação do meio, em virtude

do metabolismo celular (SINGHA; OBERLY; TOWNSEND, 1987), podendo incorporar elementos não essenciais e/ou mesmo tóxicos como compostos fenólicos (KERBAUY, 2004; MULLER et al., 2007). Uma das maneiras de se impedir tal acidificação é a adição de carvão ativado, que, além de estabilizar o pH do meio, ainda serve de fonte alternativa de carbono para a cultura (PEDROSO-DE-MORAES, 2000). E fisicamente, nas concentrações de 1 a 3 g.L⁻¹ simula a condição de escuro, no qual as raízes normalmente se desenvolvem melhor (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998), sugestão esta corroborada por experimento realizado com *Citrus limonia* Osbeck X *Poncirus trifoliata* (L.) Raf., no qual GA₃ a 0,01 mg L⁻¹ associado a concentrações de carvão ativado a partir de 0,5 g L⁻¹ até 2,0 g L⁻¹, maximizou o percentual de sobrevivência de embriões, os quais apresentaram maiores comprimentos para a raiz (4,5 cm) e haste caulinar (2,1 cm) (RIBEIRO et al., 2000). Também em trabalho realizado com bananeira, cv. Grand Naine (AAA), em concentrações crescentes de 1 a 3 g.L⁻¹ de carvão ativado ocorreu maior vigor radicular, além de maior número de raízes (COSTA et al., 2006), como ocorrido para este trabalho. Resultado semelhante também foi encontrado para sucupira-branca [*Pterodon pubescens* (Benth.) Benth.], na qual a concentração de 3 g.L⁻¹ causou engrossamento e maior crescimento de raízes, bem como melhora na característica fitotécnica coloração, a qual se apresentou verde mais intensa nos folíolos (COELHO et al., 2001).

Vários são os relatos na literatura, que comprovam os benefícios do uso do carvão ativado para a cultura *in vitro* de orquídeas, principalmente levando-se em consideração dados biométricos (FARIA et al., 2002; MORALES; MILANEZE; MACHADO, 2006; MURDAD et al., 2006; CHAPLA et al., 2009). Ainda, o carvão ativado possui a propriedade de adsorver os compostos fenólicos liberados pela oxidação dos tecidos lesionados durante o cultivo *in vitro* de orquídeas (MULLER et al., 2007). O carvão também absorve 5-hydroxymethylfurfural produzido pela autoclavagem da sacarose, impurezas do ágar, etileno produzido pela cultura, como também absorve componentes do meio de cultura, como as vitaminas, citocininas, auxinas e ácido ascórbico (DRUART; WULF, 1993).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A concentração de 1,0 g L⁻¹ de carvão ativado ao meio de cultivo Kyoto permitiu melhores resultados em relação à variável comprimento da maior raiz, podendo, dessa forma, ser utilizada quando da necessidade de se obter sistemas radiculares mais desenvolvidos.

A concentração de 3,0 g L⁻¹ de carvão ativado foi a responsável pela obtenção dos melhores resultados para as variáveis: altura das plântulas, comprimento da maior folha e peso da massa fresca.

Sugere-se o uso de 2,0 g L⁻¹ de carvão ativado para o desenvolvimento equilibrado entre os sistemas radicular e aéreo de *Cattleya pumila*.

REFERÊNCIAS

ARDITTI, J.; ERNEST, R. **Micropropagation of orchids**. New York: John Wiley & Sons, 1992. 682 p.

AYRES, M. et al. **BioEstat 5.0**: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém, PA: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília, DF: CNPq, 2004. 290 p.

BAKER, C.; BAKER, M. **Orchid culture species: *Laelia pumila*** (Hooker) Rchb. f. Disponível em: <<http://www.orchidculture.com/COD/FREE/FS176.html>>. Acesso em: 31 ago. 2011.

BIODIVERSITAS. **Lista das espécies ameaçadas de extinção da flora do estado de Minas Gerais: Deliberação COPAM 085/97**. [s.l.:s.n.], 1997. 48 p.

CARVALHO, V. S. Cultivo de orquídeas. **Revista O Mundo das Orquídeas**. v, 53, p. 6-9, 2008.

CHAPLA, P. I. et al. pH, carvão ativado e agentes geleificantes do meio de cultura no crescimento *in vitro* de *Miltonia flavescens* Lindl. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 5, n. 2, p. 87-93, 2009.

COELHO, M. C. F. et al. Germinação de sementes de Sucupira-Branca [*Pterodon pubescens* (Benth.) Benth.] *in vitro* e *ex vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 1, p. 38-48, 2001.

- COSTA, F. H. da S. et al. Efeito da interação entre carvão ativado e N⁶-benzilaminopurina na propagação *in vitro* de bananeira, CV. Grande Naine (AAA)¹. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 280-283, 2006.
- COUTINHO, L. M. **Curso de ciências biológicas: botânica**. 19. ed. São Paulo, SP: Cultrix, 1993. 307p.
- CUNHA, T. et al. Desenvolvimento *in vitro* de *Laeliocattleya schilleriana* Rolfe utilizando meios de cultivo simplificados. **Scientia Plena**, v. 7, n. 8, p. 1-5, 2011.
- DRUART, P. H.; WULF, O. de. Activated charcoal catalyses sucrose hydrolysis during autoclaving. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 32, p. 97-99, 1993.
- FARIA, R. T. et al. Preservation of the Brazilian orchid *Cattleya walkeriana* Gardner using *in vitro* propagation. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 2, n. 3, p. 489-492, 2002.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI, Embrapa-CNPq, 1998, v. 1, p. 87-132.
- JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 12. ed. São Paulo, SP: Companhia Editora Nacional, 1998. 777 p.
- KANO, K. Studies on the media for orchid seed germination. **Memoirs Faculti Agri.**, Kagawa University, v. 20, p. 1-68, 1965.
- KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2004. 452 p.
- MASSARO, R. et al. Avaliação do desenvolvimento *in vitro* de *Epidendrum secundum* Jacq. em meios de cultivo simplificados. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá, v. 5, n. 2, p. 337-351, maio/ago. 2012.
- MORAES, C. P.; ALMEIDA, M. Influência climática sobre a plasticidade fenotípica floral de *Catsetum fimbriatum* Lindley. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 4, p. 942-948, 2004.
- MORALES, S.; MILANEZE, M. A. G.; MACHADO, M. F. P. S. Effect of activated charcoal for seedlings development of *Catsetum fimbriatum* Lindl (Orchidaceae). **Journal of Plant Sciences**, v. 1, p. 388-391, 2006.

MULLER, T. S. et al. Crescimento *in vitro* e aclimação de plântulas de *Miltonia flavescens*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 252-254, 2007.

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

MURDAD, R. et al. High multiplication of *Phalaenopsis gigantea* using trimmed bases protocorms technique. **Scientia Horticulturae**, v. 111, n. 1, p. 73-79, 2006.

PEDROSO-DE-MORAES, C. **Cultivo de orquídeas**. Araras, SP: Biblioteca Duse Rügger Ometto, 2000. 130 p.

PEDROSO-DE-MORAES, C. et al. As orquídeas e o mercado. **Boletim CAOB**, v. 66, p. 36-42, 2007.

_____. Desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae) utilizando fertilizantes comerciais. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 7, n. 1, p. 67-69, 2009a.

_____. Desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya tigrina* A. Richard (Orchidaceae) utilizando fertilizantes comerciais. **Ensaio e Ciência**, v. 13, n. 2, p. 57-65, 2009b.

PRIDGEON, A. M. et al. **Genera Orchidacearum**. Oxford: Oxford University Press, 2009. 672p. v. 5 - Epidendroideae (Part II).

RIBEIRO, V. G. et al. Efeitos de ácido giberélico e carvão ativado no cultivo *in vitro* de *Citrus limonia* Osbeck \times *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 1, p. 27-30, 2000

SANTA BARBARA ORCHID STATE. **Catalog**. Disponível em: <<http://www.sborchid.com/masterlist.php?genusname=Laelia>>. Acesso em: 31 ago. 2011.

SILVA, W. **Cultivo de orquídeas no Brasil**. 6. ed. São Paulo: Nobel, 1988. 96 p.

SINGHA, S.; OBERLY, G.H.; TOWNSEND, E. C. Changes in nutrients composition and pH of the culture medium during *in vitro* shoot proliferation of crabapple and pear. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 11, n. 3, p. 209-220, 1987.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008. 640 p.

UNEMOTO, L. K. et al. Propagação *in vitro* de orquídeas brasileiras em meio de cultura simplificado. **Revista Brasileira Agrociências**, Pelotas, v. 13, n. 2, p. 267-269, 2007.

VAN DEN BERG, C. New combinations in the genus *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae). **Neodiversity**, v. 3, p. 3-12. 2008.

WITHNER, C. L. **The Cattleyas and their relatives: the laelias**. Portland: Timber Press, 1988. 136p. V. 2.

ZANENGA-GODOY, R.; COSTA, C. G. Anatomia foliar de quatro espécies do gênero *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) do Planalto Central Brasileiro. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 101-118, 2003.

Recebido em: 21 setembro 2011

Aceito em: 30 janeiro 2012