

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - FCA
CURSO DE AGRONOMIA**

**SOLUÇÕES DE PRÉ-CONDICIONAMENTO NO
CRESCIMENTO *EX VITRO* DE *Dendrobium bigibbum*
Lindl. (ORCHIDACEAE)**

HEVELIN FERNANDES ROMEIRO

E

MUHAMMAD YASIN MINOZZO CANDIA

DOURADOS

MATO GROSSO DO SUL

2022

**SOLUÇÕES DE PRÉ-CONDICIONAMENTO NO
CRESCIMENTO *EX VITRO* DE *Dendrobium bigibbum* Lindl.
(ORCHIDACEAE)**

HEVELIN FERNANDES ROMEIRO

E

MUHAMMAD YASIN MINOZZO CANDIA

Orientador: PROF. DR. JOSÉ CARLOS SORGATO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal da
Grande Dourados, como parte das
exigências do Curso de Graduação em
Agronomia, para obtenção do título de
Engenheiro Agrônomo.

DOURADOS

MATO GROSSO DO SUL

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

C217s Candia, Muhamaad Yasin Minozzo
SOLUÇÕES DE PRÉ-CONDICIONAMENTO NO CRESCIMENTO EX VITRO DE
Dendrobium bigibbum Lindl. (ORCHIDACEAE) [recurso eletrônico] / Muhamaad Yasin Minozzo
Candia, Hevelin Ferandes Romeiro. -- 2022.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: José Carlos Sorgato .
TCC (Graduação em Agronomia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2022.
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Denphal. 2. Aclimatização. 3. Ácidos orgânicos. 4. Priming. I. Romeiro, Hevelin Ferandes. II. Sorgato, José Carlos. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

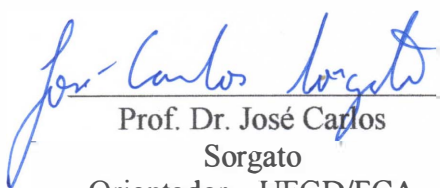
**SOLUÇÕES DE PRÉ-CONDICIONAMENTO NO
CRESCIMENTO *EX VITRO* DE *Dendrobium bigibbum* Lindl.
(Ochidaceae)**

por


HEVELIN ROMEIRO e MUHAMMAD YASIN MINOZZO CANDIA


Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado como parte dos requisitos exigidos
para obtenção do título de ENGENHEIRO AGRÔNOMO.


Aprovado em: 27/05/2022


Prof. Dr. José Carlos
Sorgato

Orientador – UFGD/FCA


Prof. Dra. Silvia Correa
Santos
UFGD/FCA


Dra. Jackeline Schultz
Soares
UFGD/FCA


Me. Jéssica Celeste Mônico
Ramos
UFGD/FCA

“Dedicamos este trabalho a todos aqueles que se dispõem ao árduo trabalho de ser pesquisador neste país, apenas a luz do conhecimento pode guiar uma nação na direção do sucesso.”

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio de nossas famílias durante o período de graduação, sem isso nada seria possível.

Agradecemos aos amigos que nos apoiaram nos momentos de necessidade, com palavras de incentivo e otimismo, foram importantes na conclusão deste trabalho.

Agradecemos ao professor Dr. José Carlos Sorgato, que desde o princípio nos apoiou, sempre disposto a nos ensinar e orientar, nem só neste trabalho, mas também na vida acadêmica, nossa eterna gratidão.

Aos professores que foram verdadeiramente incentivadores, dispostos a nos ensinar e contribuir com conhecimento na nossa formação como profissionais.

À Universidade Federal da Grande Dourados por me proporcionar as melhores condições de ensino e pesquisa, além de gerar o enriquecimento dos meus conhecimentos para a vida profissional e pessoal.

SUMÁRIO

Ficha catalográfica	3
Folha de aprovação	4
AGRADECIMENTOS	6
RESUMO	7
ABSTRACT	8
OBJETIVO	10
MATERIAL E MÉTODOS	11
RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
CONCLUSÃO	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21

ROMEIRO, H.; MINOZZO, M. C. **Soluções de pré-condicionamento no crescimento *ex vitro* de *Dendrobium bigibbum* Lindl. (Orchidaceae) 2022, 23f.** Monografia (Trabalho de Conclusão do Curso de Agronomia), Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS.

RESUMO

Denphal é uma espécie híbrida, adaptável a todos os tipos de clima, sendo utilizadas tanto envasadas quanto em flores de corte. Com esse estudo objetivou-se avaliar o crescimento *ex vitro* de plantas de Denphal em função de concentrações de ácido ascórbico, salicílico e cítrico (1 mM, 2 mM, 3 mM). Seis meses após a aclimatização as plantas foram avaliadas quanto a porcentagem de incremento do número de folhas, altura da planta, diâmetro do maior pseudobulbo, número de brotos, número de raízes, comprimento da maior raiz, comprimento da maior folha e massa fresca. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado constituído de dez tratamentos com 11 repetições de uma planta cada, totalizando 122 plantas. A embebição das raízes de Denphal em água destilada e o cultivo em recipiente provido de tampa com furo, permitindo trocas gasosas, permanecendo tampado pelos primeiros 15 dias do período experimental (controle) proporcionou os melhores resultados no crescimento *ex vitro*. O ácido ascórbico promoveu rustificação do sistema radicular de plântulas de Denphal, podendo ser uma tecnologia viável no cultivo *ex vitro* dessa planta sendo necessário novos estudos com outras concentrações.

Palavras-chaves: Denphal, Aclimatização, Ácidos orgânico

ABSTRACT

Denphal is a hybrid species, adaptive to all types of climates, being used both in potted plants and in cut flowers. This study aimed to evaluate the *ex vitro* growth of Denphal plants under different concentrations of ascorbic, salicylic and citric acid (1mM, 2mM, 3mM). Six months after acclimatization, the plants were evaluated for percentage of increase in the number of leaves, seedling height, diameter of the largest pseudobulb, number of shoots, number of roots, length of the largest root, length of the largest leaf and fresh mass. The experimental design was completely randomized and the treatments were arranged in ten treatments with 11 replications of one plant each, being a total of 122 plants. The imbibition of Denphal roots in distilled water and cultivation in a container equipped with a lid with a hole, allowing gas exchange, remaining covered for the first 15 days of the experimental period (control) provided the best results in *ex vitro* growth. Ascorbic acid promoted hardening of the root system of Denphal seedlings, which may be a viable technology in the *ex vitro* cultivation of this plant, requiring further studies with other concentrations.

Keywords: Denphal, Acclimatization, Organic acids

INTRODUÇÃO

Orchidaceae é uma família que apresenta grande diversidade de espécies e híbridos, sendo que suas espécies estão entre as plantas ornamentais de maior interesse econômico, pois contemplam uma variedade de combinações e formatos de flores (BARROS et al., 2018).

O *Dendrobium* está entre os gêneros mais comercializados, visto que possui grande quantidade de espécies e híbridos, adaptáveis a todos os tipos de clima, além de serem utilizados como flor de corte (ARAÚJO, 2017; JUNQUEIRA e PEETZ, 2017). O *Dendrobium bigibbum* Lindl. (Figura 1), híbrido, comumente chamado de *Denphal*, é largamente cultivado e comercializado, apresentando florescimento ereto e vistoso, que pode ocorrer várias vezes ao ano (ARAÚJO, 2017; JUNQUEIRA e PEETZ, 2018).



Figura 1. *Dendrobium bigibbum* Lindl. Sorgato, J.C. (2021).

Para obtenção das plantas, inclusive de orquídeas, com maior qualidade faz-se uso da biotecnologia, que é muito empregada na propagação *in vitro* (MEZZALIRA e KUHN, 2020). Esse tipo de cultivo é amplamente aplicado em ornamentais, para propagar mudas livres de fitopatógenos (SORGATO et al., 2020). Apesar do sucesso dessas técnicas, ressalta-se que muitas espécies vegetais micropropagadas não sobrevivem quando transferidas das condições *in vitro* para *ex vitro* (HAZARIKA, 2003; CHANDRA et al., 2010; MEZZALIRA e KUHN, 2021).

Alguns procedimentos que antecedem a aclimatização em viveiros permitem elevar a taxa de sobrevivência das plantas, evitando que elas se desidratem e murchem durante e após o transplante (SORGATO et al., 2020). RIBEIRO et al. (2019) estudando a utilização do sistema de ventilação natural no cultivo *in vitro*, relataram o crescimento de *Dendrobium*, tanto no cultivo *in vitro* quanto no *ex vitro*.

A aplicação de métodos de pré-condicionamento (*priming*) pode ser uma estratégia para promover a rustificação das plantas, proporcionando maior tolerância aos fatores de estresse abiótico decorrentes das alterações morfofisiológicas das plantas oriundas do cultivo *in vitro* (MELO et al., 2014).

O uso de ácidos orgânicos, como o ascórbico, salicílico e cítrico pode ser uma forma de minimizar o estresse, sendo que dentre estes, o ácido ascórbico quando utilizado no cultivo *in vitro*, possui propriedade de estimular a atividade metabólica dos tecidos (VERDE, 2021). O ácido salicílico viabiliza a indução a resistência das plantas através da via de resistência adquirida sistêmica (SAS), que ativa os mecanismos de resistência física e química (PRAKASH et al., 2021). Já o ácido cítrico, quando empregado na micropropagação, é utilizado para diminuir a oxidação de compostos fenólicos que são liberados por células danificadas (MEZZALIRA e KUHN, 2020).

No entanto, não existem informações na literatura com estes ácidos como *priming* na rustificação de plântulas de orquídeas durante a transferência do ambiente *in vitro* para o *ex vitro*. Assim, hipotetizamos que o uso de ácidos orgânicos como o ascórbico, salicílico e cítrico podem influenciar positivamente no cultivo *ex vitro* de *Dendrobium bigibbum* trazendo incremento no crescimento inicial desta.

OBJETIVO

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a indução da rustificação e do crescimento *ex vitro* de plantas de *Dendrobium bigibbum* Lindl. em embebição no ácido ascórbico, salicílico e cítrico em diferentes concentrações.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o experimento foram utilizadas plantas de *Dendrobium bigibbum* Lindl. obtidas a partir de germinação assimbiótica de sementes, oriundas de matrizes do orquidário da Faculdade de Ciências Agrárias - FCA/UFGD (22°11'53.2" S; 54°56'02.3" W), coberto pela sobreposição de duas telas de sombreamento de 50% (PAR = 235,1 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), sob condições médias de temperatura de $22,6 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$.

Sementes da espécie (0,005g) foram desinfestadas com 15 mL de solução de hipoclorito de sódio a 0,8%, por 5 minutos, e em seguida receberam tríplex lavagem com água destilada para a realização da semeadura *in vitro*. O meio de cultura utilizado foi o de Murashige e Skoog (1962), na metade da sua concentração (MS $\frac{1}{2}$), solidificado com a utilização de 4,0 g L⁻¹ de ágar bacteriológico e suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose e 6,0 g L⁻¹ de carvão ativado. Após a semeadura as sementes foram acondicionadas em sala de crescimento com temperatura, irradiância e fotoperíodo controlados ($25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$; 18,9 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; 16 h), onde permaneceram nessas condições por seis meses, com dois subcultivos.

Decorrido este período, as plantas foram retiradas dos frascos e lavadas em água corrente até total remoção do meio de cultivo, sendo avaliadas quanto a altura da planta (AP) (mm), diâmetro do maior pseudobulbo (DP) (mm), comprimento da maior raiz (CR) (mm), comprimento da maior folha (CF) (mm), massa fresca (MF) (g), número de folhas (NF), número de raízes (NR) e número de brotos (NB).

Na sequência, conjuntos de onze plantas foram alocados em bandejas de polipropileno brancas com capacidade para 3 L (30,3 x 22,1 x 7,5 cm) contendo 500 mL da solução de cada tratamento (T) para embebição do sistema radicular por 24 horas, a saber: T0 - água destilada estéril (controle - recipiente aberto); T1 - água destilada estéril (controle - recipiente fechado); T2 - solução de ácido ascórbico 1,0 mM; T3 - solução de ácido ascórbico 2,0 mM; T4 - solução de ácido ascórbico 3,0 mM; T5 - solução de ácido salicílico 1,0 mM; T6 - solução de ácido salicílico 2,0 mM; T7 - solução de ácido salicílico 3,0 mM; T8 - solução de ácido cítrico 1,0 mM; T9 - solução de ácido cítrico 2,0 mM e T10 - solução de ácido cítrico 3,0 mM.

Após este período, as plantas foram transferidas para recipientes descartáveis de polipropileno transparente com capacidade para 1000 mL (20 x 10 x 5 cm), providos de furos na base para drenagem do substrato, sendo $\frac{1}{3}$ de seu volume preenchido com

esfagno rosa (Agrolink, Holambra-SP) + fibra de coco (Golden-Mix Chips, Amafibra) (1:1, v:v). Metade das plantas do controle foram acondicionadas em recipientes providos de tampas com furos, permitindo trocas gasosas, permanecendo tampados pelos primeiros 15 dias do período experimental (T1). Enquanto as outras 11 plantas ficaram em recipientes destampados como os demais tratamentos (T0).

Todos os tratamentos permaneceram por seis meses nas mesmas condições de cultivo das plantas matrizes do Orquidário. O sistema de irrigação utilizado durante o período experimental foi constituído de difusores, posicionados a um metro acima das plantas, acionados automaticamente por temporizador digital e válvula solenóide.

Foram realizadas irrigações diárias, que totalizaram uma lâmina de água de 1 mm dia⁻¹ e também foram realizadas adubações via foliar, a cada 15 dias, com 2,0 mL L⁻¹ de NPK 10-10-10, acrescido dos micronutrientes: 0,025% de magnésio, 0,02% de boro, 0,05% de cobre, 0,10% de ferro, 0,05% de manganês, 0,0005% de molibdênio e 0,05% de zinco, com teor máximo de cloro de 0,025%. Aos 0 (zero), 30 (trinta) e 60 (sessenta) dias, as plantas foram pulverizadas, preventivamente, com O-S-dimetil-N-acetil-fosforoamidotioato (4 mg L⁻¹) e Mancozeb (4 mg L⁻¹). Tanto para a adubação foliar, quanto para o controle fitossanitário, foi utilizado pulverizador costal com capacidade para 5 L.

Com intuito de investigar a hipótese de rustificação promovida pelo *priming*, as plantas foram avaliadas quanto à sobrevivência (SOB) e às mesmas características iniciais (AP, DP, CR, CF, MF, NF, NR, NB). Além disso, o aumento no crescimento das plantas durante a fase *ex vitro*, de acordo com os tratamentos em que foram inicialmente expostas, foi calculado por meio de seus incrementos (I) em relação aos valores iniciais pela expressão $I = (VF - VI)$ (RIBEIRO et al., 2019), onde VI é o valor da variável antes da planta ser aclimatizada e VF é o valor da mesma variável após o período *ex vitro*, sendo seus valores expressos em porcentagem e submetidos à análise de variância.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com dez tratamentos e 11 repetições de uma planta cada, totalizando 122 plantas. Os dados foram transformados $\sqrt{(x + 1)}$ e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Scott Knott ($p < 5$), com auxílio do programa SISVAR (FERREIRA et al., 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância apresentou efeito significativo dos tratamentos sobre a porcentagem de incrementos da taxa de sobrevivência (SOB), da altura da planta (AP), diâmetro do maior pseudobulbo (DP), comprimento da maior raiz (CR), comprimento da maior folha (CF) e massa fresca (MF). No entanto, não houve efeito significativo dos tratamentos para o incremento em número de folhas (NF), número de raízes (NR) e número de brotos (NB) de *D. bigibbum*.

Tabela 1. Resumo do quadro de análise de variância da taxa de sobrevivência (SOB) (%) de altura de planta (AP) (mm), diâmetro do maior pseudobulbo (DP) (mm), comprimento da maior raiz (CR) (mm), comprimento da maior folha (CF) (mm), massa fresca (MF) (g), número de folhas (NF), número de raízes (NR) e número de brotos (NB), de plântulas de *D. bigibbum* em função da pré-embebição do sistema radicular em ácido ascórbico, salicílico e cítrico.

FV	G L	Quadrados médios								
		SOB	AP	DP	CR	CF	MF	NF	NR	NB
Tratamentos	10	7140,49*	166,28*	5,06*	912,36*	109,52*	0,13*	0,02 ^{ns}	10,37 ^{ns}	0,30 ^{ns}
Resíduo	30	1785,12	61,88	1,13	246,37	32,08	0,04	0,02	7,99	0,40
Média Geral		66,94	6,21	2,36	19,48	3,31	0,09	0,02	2,32	0,47
CV (%)		54,17	54,36	17,82	47,09	7,89	8,06	6,19	34,83	8,02

FV-Fator de variação, GL – Grau de Liberdade, ^{ns} não significativo, * significativo ao nível de 5% de probabilidade, ** significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Com relação à taxa de sobrevivência, houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo que o controle (T1) e os tratamentos onde as plântulas tiveram seu sistema radicular embebidas com 1, 2 e 3 mM de ácido ascórbico (AA) e 3mM de ácido cítrico (AC), apresentaram maiores porcentagens, sendo estatisticamente iguais entre si e diferente dos demais tratamentos (Figura 1).

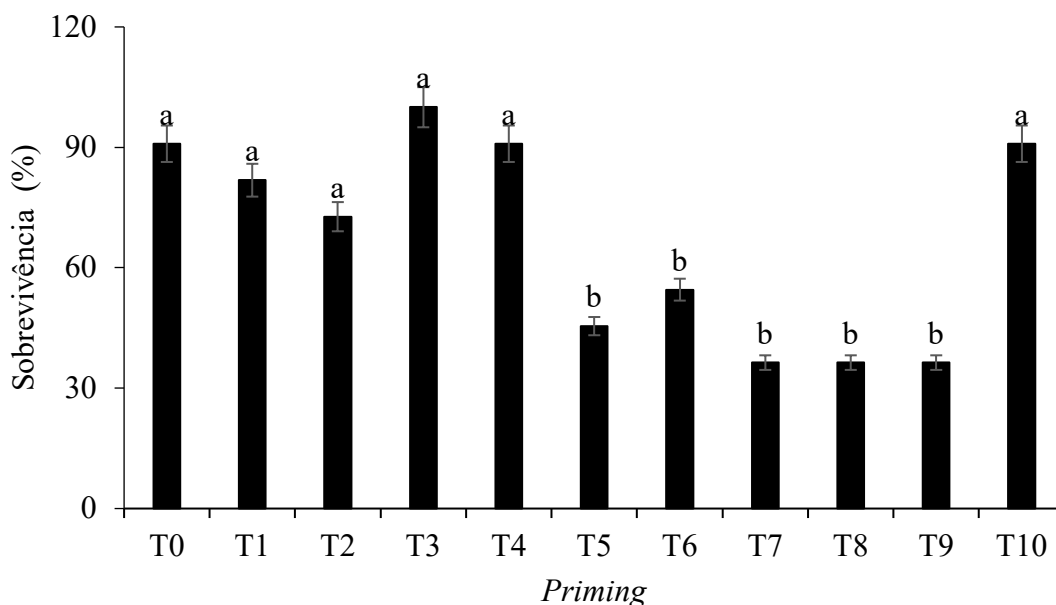


Figura 1— Porcentagem de sobrevivência de *Dendrobium bigibbum* Lindl em relação aos priming. T0: controle - recipiente aberto, T1: controle - recipiente fechado, T2: AA - 1 mM, T3: AA - 2 mM, T4: AA - 3 mM, T5: AS - 1 mM, T6: AS - 2 mM, T7: AS - 3 mM, T8: AC - 1 mM, T9: AC - 2 mM, T10: AC - 3mM. Média seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si. (Scott Knott<0,05).

Segundo Azizi (2021), a utilização de ácidos como ascórbico podem estimular o metabolismo nas plantas. Além disso, a aplicação exógena de AA tem sido considerada um método eficaz para aumentar a tolerância das plantas contra estresses abióticos.

Este ácido está diretamente ligado com o crescimento, desenvolvimento, divisão celular e alongamento celular (PINTO e GARA 2004). Além disso, a utilização de ácido ascórbico em plantas faz com que a resistência ao estresse aumente e consequentemente reduz os danos causados pelos estresses bióticos e abióticos (ROMERO e LÓPEZ, 2009). Já o ácido cítrico, possui a capacidade de controlar a oxidação de compostos fenólicos que inibem o crescimento da planta. Segundo Mapeli (2009), a utilização do ácido cítrico nas soluções apresenta ação preservativa, visto que reduz o pH da água, afetando a proliferação de bactérias que bloqueiam vasos do xilema na região do corte.

Entretanto, dentre os tratamentos que apresentaram as maiores taxas de sobrevivência, o mais recomendado para esse experimento seria o tratamento em que as plântulas tiveram seu sistema radicular embebida apenas com água destilada, pois o mesmo apresenta a ausência de ácido e consequentemente, isso acarretaria em uma redução de custos.

O maior incremento de altura de planta, foi observado quando as plantas foram embebidas em água destilada estéril no T1, apresentando incremento de 17,72%, em plantas de *Dendrobium phalaenopsis*. Os tratamentos T0, T6, T7, T9 e T10, não foram eficazes para o incremento de altura da planta (Figura 2).

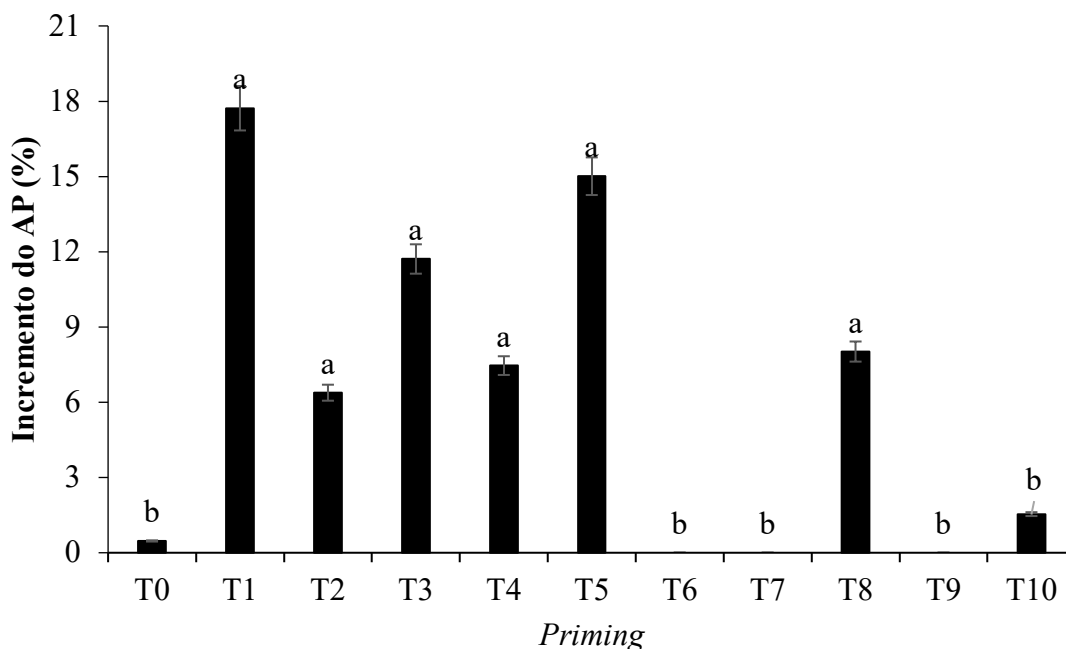


Figura 2 - Efeito dos diferentes *priming* na porcentagem de incremento da altura de planta de *Dendrobium bigibbum* Lindl. T0: controle - recipiente aberto, T1: controle - recipiente fechado, T2: AA - 1 mM, T3: AA - 2 mM, T4: AA - 3 mM, T5: AS - 1 mM, T6: AS - 2 mM, T7: AS - 3 mM, T8: AC - 1 mM, T9: AC - 2 mM, T10: AC - 3mM. Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si. (Scott Knott<0,05).

Ao se observar os resultados pode se notar que a utilização do AS, como *priming*, não incrementou o diâmetro de pseudobulbo, ao contrário do que foi visto para a altura de plantas, onde o tratamento com 1 mM de AS, possibilitou maior incremento na altura em relação aos outros. (SANJAYA 2020) destacou que a concentração exógena de AS é uma questão crítica na propagação de plantas, uma vez que regula sua função como hormônio vegetal.

Com relação ao diâmetro de pseudobulbo, observou-se o maior incremento (4,29%) quando as plantas foram embebidas em água destilada, não diferindo estatisticamente dos tratamentos T2, T3, T4, T8 e T9, superiores aos demais tratamentos que apresentaram menores porcentagens de incremento (Figura 3).

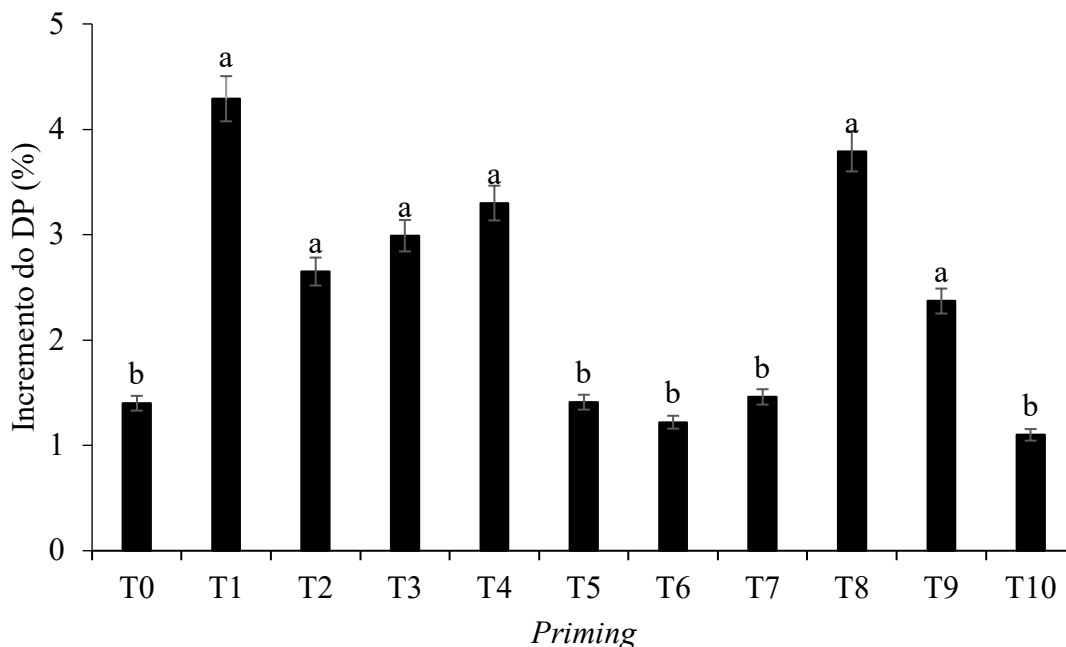


Figura 3 - Efeito dos diferentes *priming* na porcentagem de incremento do diâmetro de pseudobulbo de *Dendrobium bigibbum* Lindl. T0: controle - recipiente aberto, T1: controle - recipiente fechado, T2: AA - 1 mM, T3: AA - 2 mM, T4: AA - 3 mM, T5: AS - 1 mM, T6: AS - 2 mM, T7: AS - 3 mM, T8: AC - 1 mM, T9: AC - 2 mM, T10: AC - 3mM. Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si. (Scott Knott<0,05).

Para o comprimento da maior raiz, observou-se maior incremento no tratamento controle com recipiente fechado T1, onde recebeu água destilada estéril apresentando 44,07% (Figura 4), não apresentando diferença dos tratamentos T3 (30,46%), T4 (28,74%), T5 (22,09%) e T8 (42,77%), sendo superiores aos demais tratamentos que apresentaram menores porcentagens de incremento. A transferência da planta para o ambiente *ex vitro* pode levar a uma diminuição transitória dos parâmetros fotossintéticos e de crescimento (CHANDRA et al., 2010). O uso de *priming* nas concentrações adequadas pode incrementar o crescimento de plantas tais como as orquídeas, assim como verificado por Soonthornkalump et al. (2020) que estudando a adição de ácido ascórbico (0,14-0,58 mM) em *Paphiopedilum niveum* (Rchb.f.) observaram aumento na ação antioxidante melhorando o desenvolvimento das plantas.

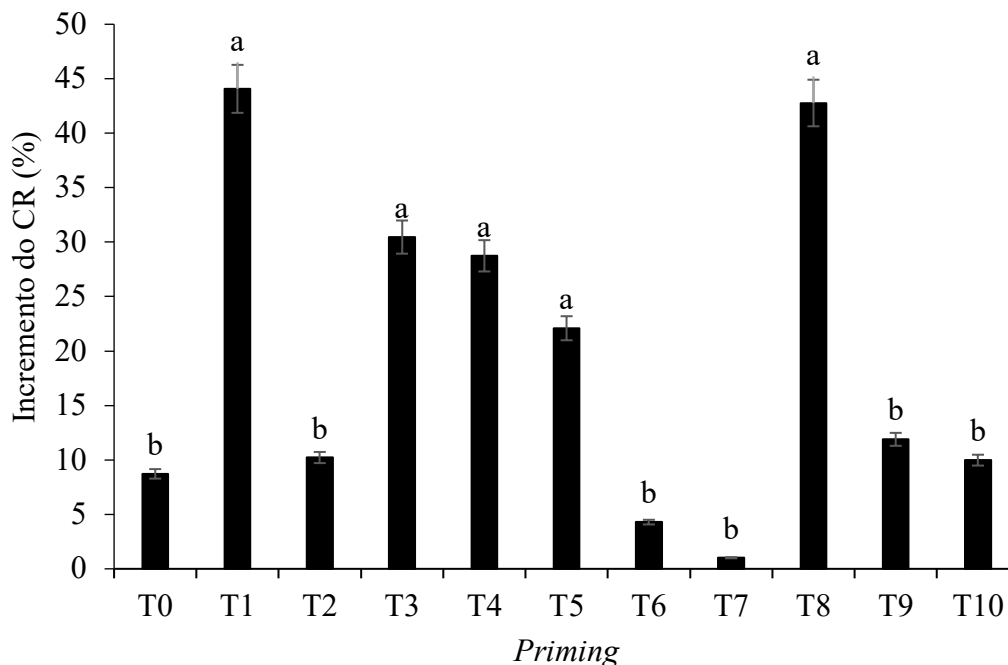


Figura 4 - Efeito dos diferentes *priming* na porcentagem de incremento do comprimento da maior raiz de *Dendrobium bigibbum* Lindl. T0: controle - recipiente aberto, T1: controle - recipiente fechado), T2: AA - 1 mM, T3: AA - 2 mM, T4: AA - 3 mM, T5: AS - 1 mM, T6: AS - 2 mM, T7: AS - 3 mM, T8: AC - 1 mM, T9: AC - 2 mM, T10: AC - 3mM. Média seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si. (Scott Knott<0,05).

A concentração de 1mM de ácido cítrico proporcionou maior incremento no comprimento da maior raiz em plantas *D. bigibbum* em relação as plantas com concentrações superiores de ácido cítrico, fato este importante, tendo em vista que a raiz é responsável pela sustentação e absorção de nutrientes, sendo um ponto chave na aclimatização de mudas produzidas *in vitro*. A aclimatização é uma etapa crítica na regeneração das orquídeas (SILVA et al., 2017), e no desenvolvimento do sistema radicular funcional que determina o sucesso da sobrevivência após o transplante (MANOKARI et al., 2021).

Substâncias como o ácido cítrico são compostos fenólicos que possuem propriedades que podem influenciar positivamente a indução de raízes adventícias, quando atuam como co-fatores de enraizamento (ZHANG et al., 2022). Diante disso, pode-se inferir que o ácido cítrico em concentração de 1mM, proporcionou um aumento do incremento de CR, possibilitando melhores chances de desenvolvimento e crescimento da planta. As plantas do T1 tendem a melhorar os processos metabólicos e trocas gasosas

elevando a necessidade de água, o que pode ocasionar estresse hídrico em um ambiente fechado, o que estimula a síntese de ácido abscísico, nas raízes, favorecendo o seu crescimento, o que pode conferir uma maior alocação de fotoassimilados para as raízes (XIE et al., 2020).

Para o comprimento da maior folha, observou-se maior incremento no tratamento controle - recipiente fechado (T1) (Figura 5), o qual diferiu dos demais tratamentos que apresentaram menores porcentagens de incremento. Sendo que para essa variável a utilização dos *primings* nas formas de ácido salicílico, ascórbico e cítrico não se mostraram eficazes. Possivelmente pela ação antioxidante dos *primings*, que eventualmente diminuiu o tamanho da parte aérea de *D. bigibbum*, em função do aumento da ação do metabolismo antioxidante. Além disso, Qian et al. (2014) relataram que foi observado inibição do crescimento de mudas de *Arabidopsis thaliana* com ácido ascórbico exógeno testado em 2 mM, indicando que o ácido ascórbico exógeno atuou como um fator de estresse afetando o crescimento das plantas.

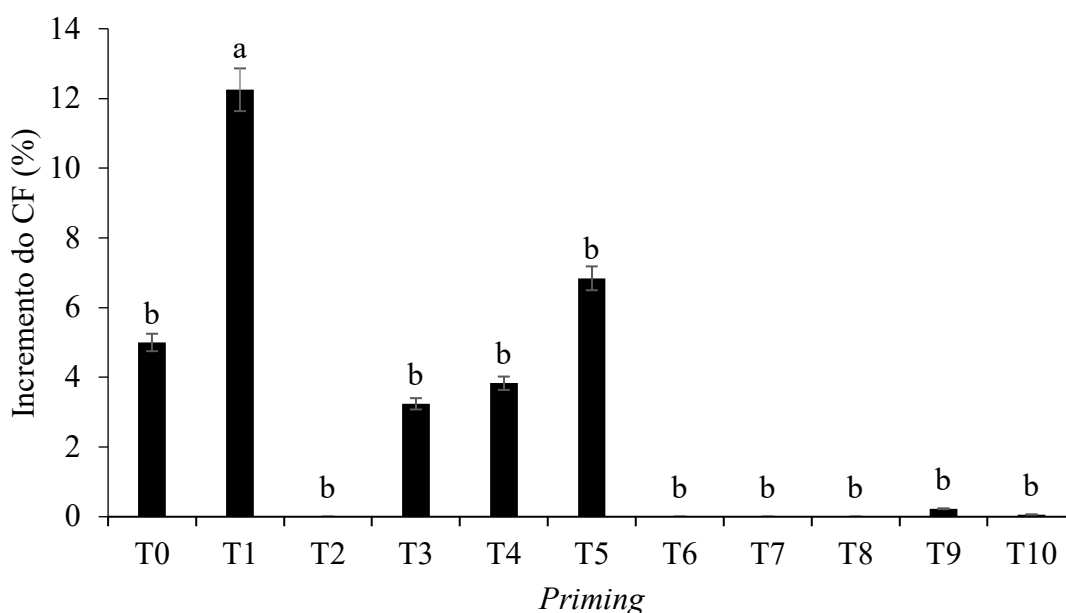


Figura 5 - Efeito dos diferentes *priming* na porcentagem de incremento do comprimento da maior folha de *Dendrobium bigibbum* Lindl. T0: controle - recipiente aberto, T1: controle - recipiente fechado, T2: AA - 1 mM, T3: AA - 2 mM, T4: AA - 3 mM, T5: AS - 1 mM, T6: AS - 2 mM, T7: AS - 3 mM, T8: AC - 1 mM, T9: AC - 2 mM, T10: AC - 3mM,. Média seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si. (Scott Knott<0,05).

Esses resultados também foram observados para variável massa fresca, onde a utilização dos *primings* não foi eficaz para o incremento dessa variável (Figura 6). Esper

et al. (2020) discute que as plantas devem ser gradualmente aclimatizadas devido suas características fisiológicas e anatômicas ao ambiente *ex vitro*, condição esta proporcionada pelo T1.

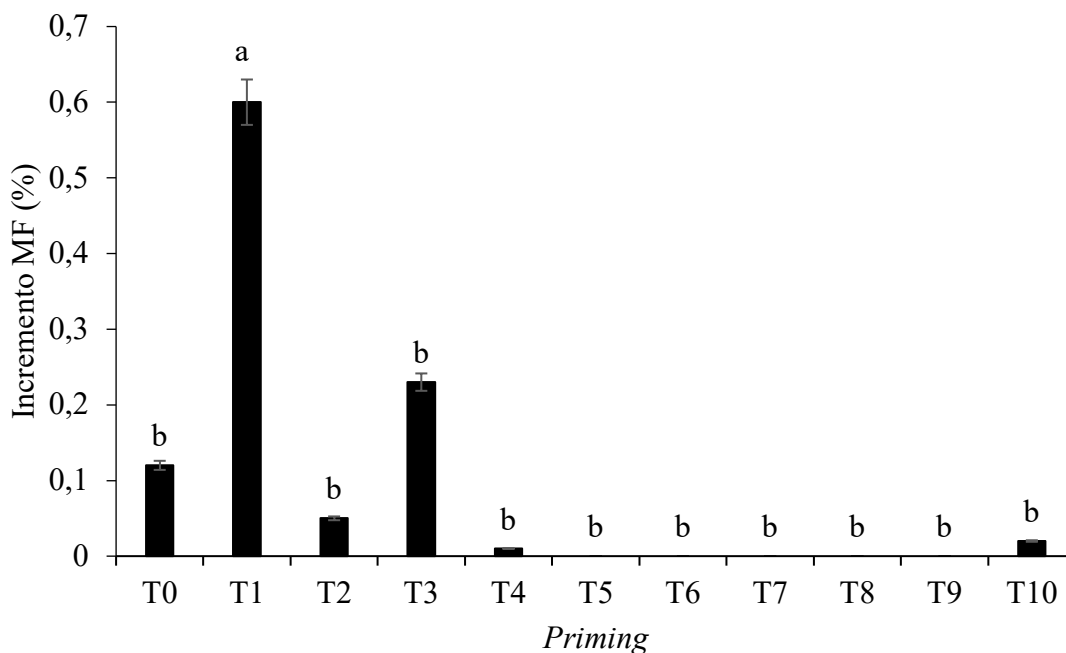


Figura 6 - Efeito dos diferentes *priming* na porcentagem de incremento de massa fresca de *Dendrobium bigibbum* Lindl. T0: controle - recipiente aberto, T1: controle - recipiente fechado), T2: AA - 1 mM, T3: AA - 2 mM, T4: AA - 3 mM, T5: AS - 1 mM, T6: AS - 2 mM, T7: AS - 3 mM, T8: AC - 1 mM, T9: AC - 2 mM, T10: AC - 3mM. Média seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si. (Scott Knott<0,05).

A utilização de *priming*, mesmo sendo uma alternativa para rustificação de plantas, quando utilizadas em excesso pode promover anormalidades na morfologia e anatomia das mudas, sendo chamadas de plantas vitrificadas ou plantas hiperídricas, ocasionalmente diminuindo seu crescimento (MARQUES et al., 2021). Como observado no presente estudo, onde o crescimento e desenvolvimento vegetal diminuiu, uma vez que as plantas tratadas com essas substâncias apresentaram baixo ou nenhum incremento.

O ácido salicílico é um regulador de crescimento endógeno e pode modular funções fisiológicas e bioquímicas (AGAMI e MOHAMED, 2013). O papel promotor desse ácido no crescimento e desenvolvimento de plântulas oriundas de produção *in vitro* foi observado em *Ziziphus spina-christi* (L.) Willd. (GALAL, 2012). No entanto, não foi observado incremento de MF e CF em plantas de *D. bigibbum* tratadas com ácido salicílico no cultivo *ex vitro*.

CONCLUSÃO

A embebição das raízes de *Denphal* em água destilada e o cultivo em recipiente provido de tampa com furo, permitindo trocas gasosas e permanecendo tampado pelos primeiros 15 dias do período experimental proporcionou os melhores resultados no crescimento *ex vitro*.

O ácido ascórbico promove rustificação do sistema radicular de plântulas de *Denphal*, podendo ser uma tecnologia viável no cultivo *ex vitro* dessa planta sendo necessário novos estudos com outras concentrações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGAMI, R. A.; MOHAMED, G. F. Exogenous treatment with indole-3-acetic acid and salicylic acid alleviates cadmium toxicity in wheat seedlings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 94, p. 164-171, 2013.

ARAÚJO, R. **Orquídeas Dendrobium**. São Paulo: Editora Europa, 2017.79p

AZIZI, F.; FARSARAEI, S.; MOGHADDAM, M. Application of exogenous ascorbic acid modifies growth and pigment content of *Calendula officinalis* L. flower heads of plants exposed to NaCl stress. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 21, p. 2803-2814, 2021.

BARROS, F.; HALL, C. F.; PAIVA NETO, V. B.; BATISTA, J. A. N. Checklist of the *Orchidaceae* from the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Iheringia - Serie Botanica**, v. 73, p. 287-296, 2018.

CHANDRA, S.; BANDOPADHYAY, R.; KUMAR, V.; CHANDRA, R. Acclimatization of tissue cultured plantlets: from laboratory to land. **Biotechnology letters**, v. 32, p. 1199-1205, 2010.

ESPER NETO, M.; BRITT, D. W.; LARA, L. M.; CARTWRIGHT, A.; SANTOS, R. F.; INOUE, T. T.; BATISTA, M. A. Initial development of corn seedlings after seed priming with nanoscale synthetic zinc oxide. **Agronomy**, v. 10, p. 1-10, 2020.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects Split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, p. 529-535, 2019.

GALAL, A. Improving effect of salicylic acid on the multipurpose tree *Ziziphus spinachristi* (L.) Willd tissue culture. **American Journal of Plant Sciences**, v. 3, p. 947-952, 2012.

HAZARIKA, B. N. Acclimatization of tissue-cultured plants. **Current Science, Stanford**, v. 85, p. 1704-1712, 2003.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Intellectual property rights in Brazilian floriculture: innovations for the growth and development of the market. **Ornamental Horticulture**, v. 23, p. 296-306, 2017.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Sustainability in Brazilian floriculture: introductory notes to a systemic approach. **Ornamental Horticulture**, v. 24, p. 155-162, 2018.

MANOKARI, M.; LATHA, R.; PRIYADHARSHINI, S.; JOGAM, P.; SHEKHAWAT, M. S. Short-term cold storage of encapsulated somatic embryos and retrieval of plantlets in grey orchid (*Vanda tessellata* (Roxb.) Hook. ex G.Don). **Plant Cell Tiss Organ Cult.** v. 144, p. 171-183, 2021.

MAPELI, A. M. **Influence of preservative solutions, anti-ethylene and cooling in the postharvest preservation of flowers *Epidendrum ibaguense* Kunth (Orchidaceae).**

2009. 117 f. **Tese** (Doutorado em Controle da maturação e senescência em órgãos perecíveis; Fisiologia molecular de plantas superiores) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

MARQUES, M. P.; MARTINS, J.; CARVALHO, L. A.; ZUZARTE, M. R.; DA COSTA, R. M.; CANHOTO, J. Study of physiological and biochemical events leading to vitrification of *Arbutus unedo* L. cultured *in vitro*. **Trees**, v. 35, p. 241-253, 2021.

MELO, G. M.; BARBOSA, M. R.; DIAS, A. L. D. F.; WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Pré-condicionamento *in vitro* de plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) para tolerância ao estresse salino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 18, p. 27-33, 2014.

MEZZALIRA, F. K.; KUHN, B. C. Padronização de um protocolo para assepsia de segmentos nodais de *Phalaenopsis* para clonagem *in vitro*. **Colloquium Agrariae**. v. 17, p. 10-17, 2021.

MEZZALIRA, F. K.; KUHN, B. C. Uso de ferramentas da bioinformática para determinação dos possíveis efeitos do β -caroteno no cultivo *in vitro* de *Phalaenopsis*. **Colloquium Agrariae**, v. 16, p. 101-113, 2020.

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

PINTO, M. C.; GARA, L. Changes in the ascorbate metabolism of apoplastic and symplastic spaces are associated with cell differentiation. **Journal of experimental botany**, v. 55, p. 2559-2569, 2004.

PRAKASH, V.; SINGH, V. P.; TRIPATHI, D. K.; SHARMA, S.; CORPAS, F. J. Nitric oxide (NO) and salicylic acid (SA): A framework for their relationship in plant development under abiotic stress. **Plant Biology**, v. 23, p. 39-49, 2021.

QIAN, H. F.; PENG, X. F.; HAN, X.; REN, J.; ZHAN, K. Y.; ZHU, M. The stress factor, exogenous ascorbic acid, affects plant growth and the antioxidant system in *Arabidopsis thaliana*. **Russian journal of plant physiology**, v. 61, p. 467-475, 2014.

RIBEIRO, L. M.; SORGATO, J. C.; SCALON, S. D. P. Q.; SOARES, J. S.; RIBEIRO, I. S. Influência da luz, ventilação natural e tamanho do frasco no crescimento e desenvolvimento de *denphal* (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 14, p. 1-7, 2019.

ROMERO, R. M. T.; LÓPEZ, D. H. A. Ameliorative effects of hydrogen peroxide, ascorbate and dehydro ascorbate in *Solanum tuberosum* infected by phytoplasma. **American journal of potato research**, v. 86, p. 218-226, 2009.

SANJAYA, I. P. W.; SUKMA, D.; SUDARSONO, S.; CHAN, M. T. Effect of genotype, concentration and timing of salicylic acid application to *Phalaenopsis* against *Dickeya dadantii* infection. **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, v. 21, p. 4317-4324, 2020.

SILVA, J. A. T.; HOSSAIN, M. M.; SHARMA, M.; DOBRÁNSZKI, J.; CARDOSO, J. C.; SONGJUN, Z. E. N. G. Acclimatization of *in vitro*-derived *Dendrobium*. **Horticultural Plant Journal**, v. 3, n. 3, p. 110-124, 2017.

SOONTHORNKALUMP, S.; YAMAMOTO, S. I.; MEESAWAT, U. Adding ascorbic acid to reduce oxidative stress during cryopreservation of somatic embryos of *Paphiopedilum niveum* (Rchb. f.) Stein, an endangered orchid species. **The Horticulture Journal**, v. 114, p. 1-07, 2020.

SORGATO, J. C.; MUDOLON, E. D.; GUIMARÃES, F. F.; SOARES, J. S.; RIBEIRO, L. M. Light sources on the germination and initial *in vitro* establishment of *Schomburgkia crispa* Lindl., a species of the Brazilian Cerrado. **Ciência Rural**, v. 51, p. 1-6, 2020.

VERDE, D. D. S. V.; SOUZA, M. M. I.; SILVA SOUZA, A.; PINTO, C. R., NOBRE, L. V. C.; SANTOS MELO, J. E.; SILVA, L. C. A. Ácido ascórbico e polivinilpirrolidona no cultivo *in vitro* de *Dioscorea* spp. **Research, Society and Development**, v. 10, p. 1-12, 2021.

XIE, Q.; ESSEMINE, J.; PANG, X.; CHEN, H.; CAI, W. Exogenous application of abscisic acid to shoots promotes primary root cell division and elongation. **Plant Science**, v. 292, p. 1-15, 2020.

ZHANG, L.; QI, X.; LU, X. T.; CUI, C. B.; GAO, X. F. Study on hypoglycemic effects of irradiated ginseng adventitious roots. **Food Chemistry: X**, v. 13, p. 1-10, 2022.