

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**CRESCIMENTO *in vitro* DE *Cattleya nobilior* Rchb.f.:
MEIOS DE CULTURA, SISTEMA DE
MICROPROPAGAÇÃO E IRRADIÂNCIA**

KALIANA GOTTSCHALK DE FREITAS

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2019**

**CRESCIMENTO *in vitro* DE *Cattleya nobile* Rchb.f.:
MEIOS DE CULTURA, SISTEMA DE
MICROPROPAGAÇÃO E IRRADIÂNCIA**

KALIANA GOTTSCHALK DE FREITAS

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 Engenharia
Agrônômica.

Dourados
Mato Grosso do Sul
2019

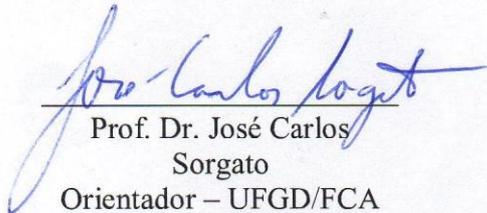
**CRESCIMENTO *in vitro* DE *Cattleya nobile* Rchb.f.:
MEIOS DE CULTURA, SISTEMA DE
MICROPROPAGAÇÃO E IRRADIÂNCIA**

por

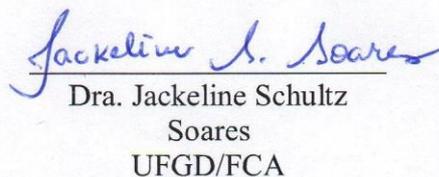
KALIANA GOTTSCHALK DE FREITAS

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado como parte dos requisitos exigidos
para obtenção do título de ENGENHEIRA AGRÔNOMA

Aprovado em: 06/06/2019


Prof. Dr. José Carlos
Sorgato
Orientador – UFGD/FCA


Profa. Dra. Tathiana Elisa
Masetto
UFGD/FCA


Dra. Jackeline Schultz
Soares
UFGD/FCA

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus pelo dom da vida, ao professor orientador José Carlos Sorgato, ao Luan Marlon Ribeiro e a Jackeline Schultz Soares por ter me dado suporte durante todo o desenvolvimento do trabalho, pela paciência e dedicação para comigo.

Agradeço a minha família em especial a minha mãe, Adriana Gottschalk Nolasco, por sempre ter me dado forças nessa caminhada. A minha tia Loreci Gottschalk Nolasco, por ter ser meu exemplo como profissional e pessoa. Também a minha tia Marli Gottschalk Nolasco e tio Daniel Ferreira pelas palavras de conforto e encorajamento. Além do meu namorado Diego Veras, que esteve comigo em todos os momentos.

Agradeço também a Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados por toda estrutura necessária para o desenvolvimento do trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
1. INTRODUÇÃO	7
2. REVISÃO DE LITERATURA	9
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Coleta e desinfestação dos frutos	13
3.2 Teste de viabilidade das sementes	13
3.3 Procedimentos para semeadura assimbiótica	13
3.4 Procedimento para avaliação	14
3.5 Delineamento experimental.....	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
5. CONCLUSÃO	24
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

RESUMO

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a adição de polpa e casca de banana na formulação dos meios de cultura, o sistema de micropropagação e a irradiância no crescimento *in vitro* de *Cattleya nobilior* Rchb. f. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com cinco meios de cultura, duas condições de luz e dois sistemas de vedação, com seis repetições de um frasco cada. Como meio de cultura, utilizou-se o meio Murashige e Skoog suplementado ou não com polpa ou de casca de banana. Os frascos contendo cada meio de cultura foram divididos em dois conjuntos e submetidos a dois sistemas de micropropagação, sendo as culturas alocadas sob duas irradiâncias proporcionadas por lâmpadas LEDs 3000K: $43 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ou $86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, em ambiente com temperatura e fotoperíodo controlados ($25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$; 16 h). Decorridos 90 dias do subcultivo, as plantas foram retiradas dos frascos, lavadas e avaliadas quanto ao 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. Tanto a utilização da polpa quanto a casca de banana como aditivos na formulação dos meios de cultura, promoveram o crescimento de *C. nobilior*. A utilização do sistema de ventilação natural promoveu o incremento em altura, diâmetro e comprimento de *C. nobilior*, enquanto que o sistema convencional promoveu o perfilhamento. O fornecimento de luz por lâmpadas LED 3000K, independente da irradiância, influencia positivamente no crescimento *in vitro* de *C. nobilior*.

Palavras-chave: horticultura ornamental, micropropagação, Orchidaceae, planta nativa.

ABSTRACT

This work was developed with the objective of evaluating the addition of banana pulp and peel in the culture medium formulation, the micropropagation system and irradiance in the *in vitro* growth of *Cattleya nobilior* Rchb. f. A completely randomized design was used in a factorial scheme with five culture media, two light conditions and two sealing systems, with six replicates of one flask each. The culture medium used was Murashige and Skoog supplemented or not with banana pulp or peel. The flasks containing each culture medium were divided into two sets and submitted to two micropropagation systems, with the cultures being allocated under two irradiations provided by LEDs 3000K: $43 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ or $86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, in an environment with controlled temperature and photoperiod (25 ± 2 °C; 16 h). After 90 days of the subculture, the plants were removed from the flasks, washed and evaluated for leaf number, plant height, diameter of largest pseudobulb, number of shoots, number of roots, length of largest root, length of largest leaf and mass fresh. Both the use of the banana pulp and the banana peel as additives in the formulation of the culture media promoted the growth of *C. nobilior*. The use of the natural ventilation system promoted the increase in height, diameter and length of *C. nobilior*, while the conventional system promoted tillering. The supply of light bulbs for LED 3000K, independent of the irradiance, positively influences *in vitro* growth of *C. nobilior*.

Keywords: Ornamental horticulture, micropropagation, Orchidaceae, native plant.

1. INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae destaca-se no setor de flores e plantas ornamentais, devido às combinações genéticas e a beleza de suas flores, além do seu apelo alimentício e farmacológico (TEIXEIRA da SILVA et al., 2017; ZAHARA et al., 2017). Essa família representa uma parcela no mercado mundial, movimentando dezenas de bilhões de dólares (SUZUKI, 2014), essa representatividade é devida principalmente aos novos híbridos que são inseridos anualmente por produtores no mercado, resultantes de cruzamentos, sendo registradas 2.345 cultivares (JUNQUEIRA & PEETZ, 2017).

O gênero *Cattleya* está entre os mais comercializados no Brasil, competindo com outras orquídeas como *Phalaenopsis* e *Dendrobium*. Possui cerca de 48 espécies distribuídas por toda América Tropical, região caracterizada por habitats de alta luminosidade e umidade relativa. Suas flores são grandes e com inúmeras cores (FARIA, et al., 2010; CARDOSO, 2014; JUNQUEIRA & PEETZ, 2017). Dentre as espécies desse gênero, destaca-se a *Cattleya nobilior* Rchb.f., espécie encontrada nos Biomas Amazônia e Cerrado, cujo nome é em razão da perfeita forma de suas flores (ARAÚJO, 2016; BARROS et al., 2018).

A propagação seminífera de orquídeas em ambiente natural é vista como inviável, já que somente 2 a 3% dessas sementes germinam. Assim, para que ocorra a germinação é necessária uma associação simbiótica com fungos micorrízicos, em razão dessas sementes não possuírem reservas nutritivas em quantidades suficientes (FARIA et al., 2012; YEUNG et al., 2018). Portanto, a técnica de cultivo *in vitro* em laboratório é uma alternativa para a propagação tanto comercial quanto para a conservação das espécies, principalmente da *C. nobilior* (FARIA et al., 2012; CARDOSO, 2014; TEIXEIRA da SILVA et al., 2017).

Vários fatores podem influenciar na germinação, no crescimento e no desenvolvimento do material vegetal cultivado *in vitro*. Dentre estes, destacam-se o meio de cultura, o sistema de micropropagação e a condição de luz utilizada para o cultivo (TEIXEIRA da SILVA et al., 2015; SILVA et al., 2016; SOARES et al., 2018).

A melhor formulação do meio de cultura para cada espécie de orquídea, principalmente para nativas, ainda necessita de ajustes em sua composição. Autores relatam que a adição de banana na propagação *in vitro* atua como suplemento

vitamínico, fonte de potássio e estimulador do enraizamento das plantas (GEORGE et al. 2008; FERREIRA et al. 2010; SU et al., 2012).

O microambiente dentro dos frascos de cultivo pode variar dependendo do sistema de micropropagação utilizado. Cultivos utilizando ventilação natural proporcionam trocas gasosas entre o interior do frasco e o ar atmosférico, influenciando o crescimento das plantas *in vitro* (CALVETE et al., 2002; SILVA et al., 2016). A luz também atua em diversos processos metabólicos dos vegetais. Assim, alguns estudos têm utilizado condições de luz como forma de otimizar o processo de propagação em salas de crescimento (TEIXEIRA da SILVA et al., 2015).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a adição de polpa e casca de banana na formulação dos meios de cultura, o sistema de micropropagação e a irradiância no crescimento *in vitro* de *Cattleya nobilior* Rchb.f.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A família Orchidaceae é a segunda maior entre o grupo das Angiospermas, sendo descritas 27.801 espécies, derivadas de 899 gêneros (THE PLANT LIST, 2019). No Brasil, encontram-se 219 gêneros e 2.451 espécies, sendo 1.572 endêmicas (BARROS et al., 2019). Estão ausentes apenas nas regiões polares e desérticas, porém abundantes em trópicos úmidos de todo o mundo (ZHANG et al., 2018).

As plantas dessa família botânica, com relação ao seu habitat, podem ser epífitas, terrícolas ou rupícolas, com propagação por via sexuada e/ou assexuada, sendo a via seminífera resultante de maior diversidade de cores e formas das flores. Segundo seu tipo de crescimento são agrupadas em simpodiais, as quais possuem crescimentos laterais, ou monopodiais com crescimento apical ilimitado e vertical (FARIA et al., 2012).

O gênero *Cattleya* apresenta 102 espécies, sendo 95 endêmicas do Brasil (BARROS et al., 2019). Este gênero possui hábito rupícola e, sobretudo, epifítico (FARIA et al., 2010). Apresenta ampla capacidade de recombinação genética, estrutural, beleza e durabilidade de suas flores. Por essa razão, é explorado comercialmente, o que juntamente a degradação dos seus habitats, pode resultar na erosão genética (SUZUKI et al., 2010). A maioria das espécies desse gênero são encontradas no topo de grandes árvores, exigem um ambiente com condições de cultivo intermediárias sem extremos, bem como umidade relativa entre 60 a 70% (FARIA et al., 2010).

Em geral, os pseudobulbos do gênero são longos e cilíndricos, encimados por uma ou duas folhas suculentas. Quando apresentam apenas uma folha recobrindo o pseudobulbo, são chamadas de espécies unifoliadas, as quais apresentam flores maiores e em menor quantidade. Em contrapartida, as espécies bifoliadas, que apresentam duas folhas, possuem flores menores e em maior quantidade. As sépalas são totalmente abertas e menores que as pétalas laterais. O labelo é grande, voltado para baixo e curvo sobre a coluna, a antera possui quatro políneas (FARIA et al., 2010).

Dentre as espécies, *Cattleya nobilior* Rchb.f, (Figura 1), conhecida como a Rainha do Cerrado, é uma das mais valorizadas e foi descrita pela primeira vez em 1883 por Reichenbach. De ocorrência em matas secas, e também vegetando em locais que apresentam longos períodos de estiagem e alta luminosidade, a espécie é de substrato epífita ou rupícola (OSTETTO, 2015). Quanto aos aspectos morfológicos, apresenta

caule rizomatoso, com dois entrenós por rizoma, pseudobulbos claviformes e geralmente bifolheados com comprimento de cinco até 30 cm. Os lobos laterais do labelo recobrem quase que toda a coluna da planta e suas folhas possuem forma elíptica e oblonga, com inflorescência em pseudobulbo diferenciado sem folhas, que produzem de uma a três flores, a cor das sépalas e pétalas podem ser rosas, rosa-escuro, lilás e lilás-escuro, florescendo entre os meses de agosto a setembro (BARROS et al., 2019).



Figura 1. *Cattleya nobilior* Rchb. f. Aspecto morfológico da flor. Foto: Jackeline S. Soares.

A multiplicação da espécie *Cattleya* de forma natural apresenta crescimento lento, em razão do metabolismo ácido das crassuláceas (CAM) e da necessidade de interações mutualísticas com insetos para polinização e microrganismos para germinação (ROBERTS & DIXON, 2008; SUZUKI et al., 2010). Como alternativa para multiplicação rápida e eficiente de orquídeas, visando à pesquisa e a produção em escala comercial, bem como à conservação das espécies ameaçadas de extinção, utilizam as técnicas de cultivo *in vitro* (CARDOSO, 2014; SORGATO et al., 2014).

Dentre as técnicas, a germinação assimbiótica de sementes de orquídeas tem grande relevância, uma vez que apresenta elevados percentuais de germinação quando comparada à germinação em condições naturais. Nesse sentido, a produção de orquídeas por esse método é importante, pois possibilita um grande número de mudas em pequeno espaço físico, pouco tempo de cultivo e com elevada qualidade sanitária (FARIA et al., 2012; CARDOSO, 2014).

Um dos meios de cultura mais utilizados no cultivo *in vitro* de orquídeas é o MS (TEIXEIRA da SILVA et al., 2015). Em 1962, os pesquisadores Murashige e Skoog iniciaram o desenvolvimento do meio conhecido como MS a partir de testes de suplementação do meio White, o qual foi utilizado durante anos como meio básico para a cultura de uma grande variedade de tecidos de diferentes espécies. O meio MS é basicamente um composto de macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, FeEDTA, sacarose e ágar acrescido de carvão aditivado (GALDIANO JÚNIOR et al., 2013).

Todos os meios de cultura devem atender a função primordial, ou seja, atender as necessidades das plantas quanto à nutrição mineral. Assim, pode haver mudanças nas formulações destes, para atender as exigências de cada espécie cultivada *in vitro* (GALDIANO JÚNIOR et al., 2013). Alguns autores apontam a adição de banana ao meio de cultivo como intensificadora do crescimento de plântulas de orquídeas obtidas através de explante *in vitro*. As substâncias oferecidas pela banana como, potássio, fósforo e magnésio podem promover diferentes efeitos no cultivo *in vitro*, dependendo diretamente da cultivar e da concentração de banana utilizadas (GEORGE et al., 2008; FARIA et al., 2012; SEON et al., 2018).

Para a germinação assimbiótica de sementes de orquídeas, a introdução de banana na formulação de meio de cultura foi testada pela primeira vez no Brasil, no ano de 1950, por Graefling. Depois disso, o uso de polpa de banana começou a ser utilizada em meios para germinação *in vitro* (ARDITTI & ERNST, 1992). A casca da banana, por ser um resíduo orgânico, muitas vezes é descartada, sendo assim, a utilização desta na composição de meios de cultivo também pode ser uma alternativa viável e deve ser estudada para micropropagação de mudas.

O sistema de micropropagação convencional propicia, dentro dos frascos de cultivo *in vitro*, alta umidade relativa e reduzidas trocas gasosas, fatores que colaboram para desordens anatômicas e metabólicas das plantas submetidas a esse sistema (KOZAI, 2010; SILVA et al., 2016). Diante disso, diferentes estratégias estão sendo usadas quanto ao sistema de micropropagação, tais como a ventilação natural dos frascos (SILVA et al., 2016). Essa estratégia é viabilizada com o uso de frascos que permitam trocas gasosas entre o ambiente *in vitro* e *ex vitro*, reduzindo a umidade relativa e aumentando a aeração (MOHAMED & ALSADON, 2010).

Nos ambientes controlados, a quantidade e qualidade de luz proporcionada também estão intimamente ligadas ao crescimento e desenvolvimento das plantas cultivadas. Com isso, a substituição de lâmpadas fluorescentes por diodos emissores de

luz (LED) vem sendo estudados. Estes são dispositivos semicondutores compostos basicamente por silício, que emitem luz de estreito espectro quando energizados (YEH & CHUNG, 2009; ROCHA et al., 2013).

Essa tecnologia vem ganhando destaque no cultivo *in vitro* de orquídeas, e também de outras espécies de plantas (MENGXI et al., 2011), uma vez que os LEDs trazem como vantagens o controle do espectro de luz emitido, baixo consumo de energia elétrica e maior durabilidade. Através das propriedades espectrais é possível, ainda, regular as características das plantas cultivadas *in vitro*, como variações morfológicas, anatômicas e atributos fisiológicos como o alongamento, a formação de brotos axilares, a indução de embriões somáticos, a rizogênese, a anatomia foliar, e habilidades fotossintéticas (GUPTA & JATOTHU, 2013).

Embora a semeadura assimbiótica seja muito utilizada e difundida, o conhecimento disponível a respeito de protocolos de propagação ainda é restrito a algumas espécies. Assim, estudos sobre protocolos de multiplicação para espécies de orquídeas do cerrado ainda são pouco desenvolvidos, evidenciando a necessidade de trabalhos na área de germinação, multiplicação, conservação e melhoramento genético (SILVA et al., 2016).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultivo *in vitro* de Flores e Plantas Ornamentais da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), durante o período de outubro de 2018 a janeiro de 2019.

3.1 Coleta e desinfestação dos frutos

Como material vegetal utilizou-se sementes provenientes de frutos maduros da orquídea *Cattleya nobilior* Rchb. f., oriundos de polinização natural matrizes localizadas na RPPN Buracos das Araras, Jardim- MS, essas sementes foram levadas para o laboratório, avaliadas quanto à viabilidade pelo teste de tetrazólio e posteriormente acondicionadas em dessecador com sílica gel (25 ± 2 °C; 75% UR) por 14 dias.

3.2 Procedimentos para semeadura assimbiótica

Após este período as sementes foram retiradas do dessecador e uma amostra homogênea foi submetida ao teste de tetrazólio. Com a confirmação da viabilidade, uma amostra de 0,005 g de sementes foi levada para ambiente asséptico e desinfestada com 15 mL de solução de hipoclorito de sódio a 0,8%, permanecendo imersa durante cinco minutos. Após este período, a suspensão de sementes foi diluída para 50 mL e em seguida recebeu tríplice lavagem com água destilada estéril. Na sequência, o volume da suspensão foi completado para 50 mL com água destilada esterilizada em autoclave (121 °C e 1,1 atm de pressão por 20 minutos) para a semeadura *in vitro*, inoculando-se 1000 µL da suspensão de sementes por frasco de cultivo.

Foram utilizados 60 mL de meio de cultura Murashige & Skoog (1962), na metade da concentração de sais (MS ½), utilizando-se frasco com capacidade de 600 mL. Posteriormente, os frascos com as sementes inoculadas foram dispostos na sala de crescimento com temperatura e fotoperíodo controlados (25 ± 2 °C; 16 h/8 h) e irradiância de $22 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, proporcionada por duas lâmpadas fluorescentes brancas.

3.3 Implantação do experimento

Após 210 dias de cultivo, as plantas foram padronizadas quanto ao tamanho ($1,0 \pm 0,3$ cm) e subcultivadas para o início do período experimental.

Como meio de cultura (MC), utilizou-se para o crescimento das plântulas, o meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, solidificado com 7,0 g L⁻¹ de ágar bacteriológico (Himedia®, Índia) (controle), ou suplementado com polpa de banana (100 g L⁻¹; 200 g L⁻¹) (B100; B200) ou casca de banana (100 g L⁻¹; 200 g L⁻¹) (C100; C200) de frutos em estágio de senescência.

Na sequência, o pH do meio foi aferido e ajustado para 5,8 utilizando-se KOH (0,1M) antes da esterilização em autoclave (121 °C e 1,1 atm de pressão), por 20 minutos e, distribuído 30 mL do meio em frascos com capacidade de 250 mL. Após os meios atingirem temperatura ambiente, os frascos foram transferidos para ambiente estéril.

Foram inoculadas três plantas por frasco de cultivo. A seguir, os frascos contendo cada meio de cultura foram divididos em dois conjuntos e submetidos a dois sistemas de micropropagação (SM): metade dos frascos foi vedada hermeticamente com filme de policloreto de vinila (PVC) (Sistema Convencional - SC) e a outra metade com filme PVC com furo e filtro de algodão (Sistema de Ventilação Natural - SVN), permitindo trocas gasosas. Na sequência, as culturas foram alocadas sob duas irradiâncias (I): 43 µmol m⁻² s⁻¹ (LED 3000K - 1) ou 86 µmol m⁻² s⁻¹ (LED 3000 K - 2), em ambiente com temperatura e fotoperíodo controlados (25±2 °C; 16 h), sendo cada conjunto exposto à uma condição de luz.

3.4 Procedimentos para avaliação

Decorridos 90 dias do subcultivo, as plantas foram retiradas dos frascos e lavadas em água corrente até total remoção do meio de cultivo, posteriormente foram avaliada quanto ao número de folhas (NF), altura da planta (AP), diâmetro do maior pseudobulbo (DP) (mm), número de brotos (NB), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CR) (mm), comprimento da maior folha (CF) (mm) e massa fresca (MF) (g). Para a determinação das variáveis AP, DP, CR e CF foi utilizado um paquímetro digital e para a determinação da MF foi utilizado uma balança analítica. Após as avaliações, os tratamentos foram fotografados com câmera acoplada em mini estúdio fotográfico.

3.5 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado e os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial 5 x 2 x 2 (cinco meios de cultura,

duas condições de luz e dois sistemas de vedação), com seis repetições de um frasco cada. Os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo comparados pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), com auxílio do programa SISVAR (Programa de Análises Estatísticas v.5.3. Universidade Federal de Lavras, MG).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação significativa em conjunto e isolado para todas as características analisadas. A interação tripla MC x SM x I foi significativa para os parâmetros AP, DP, CR, CF e MF. A interação MC x I apresentou significância para NF e NR. O fator SM influenciou isoladamente o NF e o NP de *Cattleya nobilior* ($p < 0,05$) (Tabela 1).

TABELA 1. Resumo da análise de variância de número de folhas (NF), altura de plantas (AP), diâmetro de pseudobulbos (DP), número de pseudobulbos (NP), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CR), massa fresca (MF) e comprimento da maior folha (CF). UFGD, Dourados-MS, 2019.

F.V.	G.L.Quadrado Médio.....							
		NF	AP	DP	NP	NR	CR	MF	CF
I	1	50,12*	31,05 ^{ns}	0,03 ^{ns}	3,48*	50,12 ^{ns}	0,70 ^{ns}	0,05 ^{ns}	389,62*
MC	4	63,20 ^{ns}	319,88*	1,37 ^{ns}	1,70 ^{ns}	63,20 ^{ns}	99,51*	0,99*	103,00 ^{ns}
SM	1	135,57*	1190,32*	3,49*	10,53*	135,57*	33,20 ^{ns}	0,55 ^{ns}	1882,82*
I x MC	4	163,80*	198,05*	3,76*	0,52 ^{ns}	163,80*	82,53*	1,84*	72,02 ^{ns}
I x SM	1	16,46 ^{ns}	19,97 ^{ns}	4,45*	0,10 ^{ns}	16,46 ^{ns}	0,99 ^{ns}	1,44*	68,90 ^{ns}
MC x SM	4	20,86 ^{ns}	307,57*	2,52*	1,57 ^{ns}	20,86 ^{ns}	36,60 ^{ns}	1,18*	133,40 ^{ns}
I x MC x SM	4	17,88 ^{ns}	293,36*	2,74*	1,20 ^{ns}	17,88 ^{ns}	21,39*	1,16*	313,05*
Total		4.045,76	12.511,58	114,74	153,87	2.598,55	37.683,91	52,32	11.218,5
M.G.		8,65	24,02	2,37	2,14	9,17	42,18	0,92	18,16
C.V. (%)		25,6	16,04	12,91	20,2	20,17	17,48	16,42	19,25

*: significativo; ^{ns}: não significativo, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

F.V.: fator de variância; G.L.: grau de liberdade; M.G.: média geral. I = irradiância; MC = meio de cultivo; SM = sistema de micropropagação.

A utilização de meio de cultura B100, SVN e LED 3000K-2, proporcionou melhores resultados para AP (38,79 mm), embora sem diferença significativa para B100 + SVN + 3000K-1 (32,54 mm), B200 + SVN + 3000 K-2 (27,30 mm) e C200 + SVN + 3000 K-2 (30,47 mm). Apresentando diferença significativa apenas para aquelas cultivadas no mesmo MC e na mesma I, porém com SC (14,16 mm) (Tabela 2).

Tabela 2. Altura das plantas de *Cattleya nobilior* Rchb. em função do meio de cultura, tipo de vedação e irradiância estudados. UFGD, Dourados-MS, 2019.

Meio	Altura de planta			
SVN.....	SC.....	
	3000K-1	3000K-2	3000K-1	3000K-2
B100	32,54 abA ^a	38,79 aA ^a	20,27 aA ^b	14,16 bA ^b
B200	30,61 abA ^a	27,30 abcA ^a	23,04 aB ^a	33,02 aA ^a
C100	34,57 aA ^a	16,51 cB ^a	22,50 aA ^b	18,40 bA ^a
C200	21,93 abA ^a	30,47 abA ^a	23,29 aA ^a	17,29 bA ^b
MS	20,80 bA ^a	18,20 bcA ^a	15,77 aA ^a	21,00 abA ^a
Média	28,09	26,21	20,97	20,77
C.V. (%)	16,04			

Letras minúsculas na coluna comparam os meios de cultura na mesma vedação e na mesma irradiância. Letras maiúsculas, na linha, comparam a irradiância dentro do mesmo meio de cultura e tipo de vedação. Letras sobrescritas, na linha, comparam o tipo de vedação no mesmo meio de cultura e irradiância (Tukey $p < 0,05$). B100 = 100g de polpa de banana; B200 = 200g de polpa de banana; C100 = 100g de casca de banana; C200 = 200g de casca de banana; MS = Murashige & Skoog (1962); SVN = sistema de ventilação natural; SC = sistema convencional; LED 3000K-1 ($43 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ou LED 3000 K-2 ($86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Em concordância com os resultados encontrados nesse trabalho, Araújo et al. (2006) observaram que plântulas de *Cattleya loddgesii* 'Grande' x *Cattleya loddgesii* 'Alba' quando cultivadas em meio Knudson suplementado com 100 g L^{-1} de polpa de banana, também apresentaram maior altura. Os autores relataram ainda, que isso pode estar relacionado com o fato de a banana promover o desenvolvimento da parte aérea no cultivo *in vitro* de orquídeas, bem como a emissão de brotos adventícios.

O sistema de ventilação natural também influenciou na altura das plantas de *C. nobilior*. Silva et al. (2014) e Silva et al. (2016), relataram que sistemas de vedação que permitam troca gasosa entre o interior do frasco com o ar atmosférico, favorecem o crescimento das plantas quando comparadas ao crescimento daquelas cultivadas em ambiente hermético. Moreira et al. (2013) estudando o crescimento de *Cattleya walkeriana* em diferentes sistemas de micropropagação também encontrou maior altura de plantas utilizando o sistema de ventilação quando comparada com a micropropagação convencional.

Além disso, a qualidade da luz proporcionada ao material propagado é importante para a regulação de várias vias bioquímicas que controlam desde o crescimento até a morfogênese. É importante ressaltar que as respostas das plantas a

irradiância da luz estão fortemente associadas à espécie vegetal cultivada (HUNG et al., 2016; TAIZ et al., 2017).

Para o DP os melhores resultados foram observados com a utilização do meio de cultura C200 + SVN + 3000 K-2 (3,41 mm), não diferindo significativamente dos resultados encontrados para os diferentes meios de cultivo dentro da mesma irradiância e sistema de micropropagação. Evidenciando que nessas condições o SM e a I, para esta variável, influenciaram mais do que o meio de cultura utilizado (Tabela 3).

Tabela 3. Diâmetro de pseudobulbos de *Cattleya nobilior* Rchb.f. em função do meio de cultura, tipo de vedação e irradiância estudados. UFGD, Dourados-MS, 2019.

Meio	Diâmetro de pseudobulbo			
SVN.....	SC.....	
	3000K-1	3000K-2	3000K-1	3000K-2
B100	2,83 aA ^a	2,76 aA ^a	2,20 aA ^a	0,56 cB ^b
B200	2,12 aB ^a	3,14 aA ^a	1,95 aB ^a	2,93 bcA ^a
C100	2,56 aA ^a	2,20 aA ^a	2,54 aA ^a	1,60 abB ^a
C200	2,08 aB ^b	3,41 aA ^a	3,24 aA ^a	2,01 aB ^b
MS	2,11 aA ^a	2,25 aA ^a	1,99 aB ^a	3,06 aA ^a
Média	2,34	2,75	2,38	2,03
C.V. (%)	12,91			

Letras minúsculas na coluna comparam os meios de cultura na mesma vedação e na mesma irradiância. Letras maiúsculas, na linha, comparam a irradiância dentro do mesmo meio de cultura e tipo de vedação. Letras sobrescritas, na linha, comparam o tipo de vedação no mesmo meio de cultura e irradiância (Tukey $p < 0,05$). B100 = 100g de polpa de banana; B200 = 200g de polpa de banana; C100 = 100g de casca de banana; C200 = 200g de casca de banana; MS = Murashige & Skoog (1962); SVN = sistema de ventilação natural; SC = sistema convencional; LED 3000K-1 ($43 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ou LED 3000 K-2 ($86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Os frascos com sistema de ventilação natural influenciaram positivamente o DP. A vedação hermética dos frascos pode ocasionar aumento do CO₂ e gás etileno, o que pode acarretar em mudanças fisiológicas nas plantas (SILVA et al., 2014; TEIXEIRA da SILVA et al., 2017). Desse modo, as trocas gasosas proporcionadas por esse sistema podem permitir a eliminação do etileno para o meio externo e como consequência contribuindo para o aumento em diâmetro de pseudobulbos.

A densidade de fluxo de fótons, qualidade da luz e o fotoperíodo influenciam diretamente a morfogênese das plantas quando cultivadas *in vitro* (LIAN et al., 2002; TEIXEIRA da SILVA et al., 2015; TAIZ et al., 2017). Sabe-se que o fornecimento de baixa irradiância para as plantas, resulta em uma fotossíntese

deficiente, ocasionando sintomas como estiolamento. Por outro lado, elevadas irradiâncias podem gerar radicais de oxigênio, causando fotoinibição (ARAÚJO et al., 2009). Os resultados encontrados para DP sugerem que a irradiância do LED 3000K-2 foi apropriada, promovendo crescimento em diâmetro, provavelmente pelo maior acúmulo de fotoassimilados, uma vez que estes são órgão de reserva.

Para CR, o meio MS combinado com o SVN e 3000 K-2 propiciaram o maior incremento (13,65 mm), não diferindo de B200 + SVN + 3000 K-2 (10,00 mm) e C100 + SVN + 3000 K-2 (9,16 mm). Valor este estatisticamente maior do que os encontrados para MS + SC + 3000 K-2 (8,66 mm) e MS + SVN + 3000 K-1 (6,66 mm) (Tabela 4). Em contrapartida, Vieira et al. (2009) observaram que o meio contendo polpa de banana + água de coco apresentou melhor desenvolvimento radicular para um híbrido de *Cattleya*. Esses autores atribuem os resultados ao fato de que banana estimula o enraizamento devido à quantidade de potássio.

Tabela 4. Comprimento da maior raiz de *Cattleya nobilior* Rchb.f. em função do meio de cultura, tipo de vedação e irradiância estudados. UFGD, Dourados-MS, 2019.

Comprimento da maior raiz				
MeioSVN.....	SC.....	
	3000K-1	3000K-2	3000K-1	3000K-2
B100	13,33 aA ^a	6,16 bB ^a	12,33 aA ^a	8,50 abA ^a
B200	7,83 abcA ^a	10,00 abA ^a	11,66 aA ^a	14,50 aA ^a
C100	10,83 abA ^a	9,16 abA ^a	9,50 aA ^a	10,50 abA ^a
C200	4,00 cA ^a	4,83 bA ^a	8,16 aA ^a	6,00 bA ^a
MS	6,66 bcB ^a	13,65 aA ^b	7,16 aA ^a	8,66 abA ^a
Média	8,53	8,76	9,76	9,63
C.V. (%)	17,48			

Letras minúsculas na coluna comparam os meios de cultura na mesma vedação e na mesma irradiância. Letras maiúsculas, na linha, comparam a irradiância dentro do mesmo meio de cultura e tipo de vedação. Letras sobrescritas, na linha, comparam o tipo de vedação no mesmo meio de cultura e irradiância (Tukey $p < 0,05$). B100 = 100g de polpa de banana; B200 = 200g de polpa de banana; C100 = 100g de casca de banana; C200 = 200g de casca de banana; MS = Murashige & Skoog (1962); SVN = sistema de ventilação natural; SC = sistema convencional; LED 3000K-1 ($43 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ou LED 3000 K-2 ($86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Para o comprimento de folha, os maiores valores foram encontrados em C100 + SVN + 3000 K-1 (29,63 mm) não diferindo significativamente dos demais meios de cultura no sistema de micropropagação e na mesma irradiância, porém sendo superior ao C100 + SVN + 3000 K-2 (12,12 mm) e ao C100 + SC + 3000 K-1 (14,84 mm) (Tabela 5).

Tabela 5. Comprimento de folha de *Cattleya nobilior* Rchb.f. em função do meio de cultura, tipo de vedação e irradiância estudados. UFGD, Dourados-MS, 2019.

Comprimento de folha				
MeioSVN.....	SC.....	
	3000K-1	3000K-2	3000K-1	3000K-2
B100	27,05 aA ^b	24,4 abA ^a	11,85 abA ^b	7,90 aA ^b
B200	24,67 aA ^a	22,30 abcA ^a	16,42 abA ^a	17,50 aA ^a
C100	29,63 aA ^a	12,12 cB ^a	14,84 abA ^b	14,35 aA ^a
C200	21,06 aA ^a	26,32 aA ^a	22,95 aA ^a	9,35 aB ^b
MS	20,17 aA ^b	12,68 bcA ^a	10,18 bA ^a	16,70 aA ^a
Média	24,51	19,56	15,25	13,16
C.V. (%)	19,25			

Letras minúsculas na coluna comparam os meios de cultura na mesma vedação e na mesma irradiância. Letras maiúsculas, na linha, comparam a irradiância dentro do mesmo meio de cultura e tipo de vedação. Letras sobrescritas, na linha, comparam o tipo de vedação no mesmo meio de cultura e irradiância (Tukey $p < 0,05$). B100 = 100g de polpa de banana; B200 = 200g de polpa de banana; C100 = 100g de casca de banana; C200 = 200g de casca de banana; MS = Murashige & Skoog (1962); SVN = sistema de ventilação natural; SC = sistema convencional; LED 3000K-1 ($43 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ou LED 3000 K-2 ($86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Quanto à massa fresca das plantas, houve interação significativa entre os meios, sistema de micropropagação e irradiância com a utilização de B200 + SC + 3000 K-2 (2,30 g), em relação a todos os tratamentos estudados (Tabela 6).

Tabela 6. Massa fresca de *Cattleya nobilior* Rchb.f. em função do meio de cultura, tipo de vedação e irradiância estudados. UFGD, Dourados-MS, 2019.

Massa fresca				
MeioSVN.....	SC.....	
	3000K-1	3000K-2	3000K-1	3000K-2
B100	1,66 aA ^b	0,93 aB ^a	0,77 aA ^a	0,38 bA ^a
B200	0,95 abA ^a	1,02 aA ^b	0,70 aB ^a	2,30 aA ^a
C100	1,52 aA ^b	0,62 aB ^a	0,78 aA ^a	0,77 bA ^a
C200	0,58 bA ^a	0,99 aA ^a	0,81 aA ^a	0,60 bA ^a
MS	0,59 bAa	1,00 aA ^b	0,53 aA ^a	0,84 bA ^a
Média	1,06	0,91	0,72	0,98
C.V. (%)	16,42			

Letras minúsculas na coluna comparam os meios de cultura na mesma vedação e na mesma irradiância. Letras maiúsculas, na linha, comparam a irradiância dentro do mesmo meio de cultura e tipo de vedação. Letras sobrescritas, na linha, comparam o tipo de vedação no mesmo meio de cultura e irradiância (Tukey

$p < 0,05$). B100 = 100g de polpa de banana; B200 = 200g de polpa de banana; C100 = 100g de casca de banana; C200 = 200g de casca de banana; MS = Murashige & Skoog (1962); SVN = sistema de ventilação natural; SC = sistema convencional; LED 3000K-1 ($43 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ou LED 3000 K-2 ($86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Assim como os resultados deste trabalho, Hermann et al. (2011), observaram que o meio alternativo acrescido de polpa de banana, influenciou significativamente na maior massa fresca de plântulas de *Brassavola tuberculata* quando comparado ao meio de Murashige e Skoog e Knudson C.

Já a forma de vedação convencional utilizada proporcionou maiores valores para MF, o que pode ser explicado segundo Silva et al. (2014) pela maior umidade relativa do ar dentro dos frascos devido a vedação total, possibilitando maior acúmulo de água pelos tecidos. Ainda, o comprimento de onda utilizado no cultivo *in vitro* também pode acarretar na promoção do crescimento foliar, acúmulo de carboidratos e alterações anatômicas (HUNG et al., 2016). Sendo assim pode ter contribuído diretamente para o incremento da massa fresca das plantas.

Para NF e NR, a interação MC x I demonstrou maiores valores na combinação de B100 e 3.000K-1, apresentando médias de 15,75 folhas e 12,83 raízes. Islam et al. (2015) estudando o cultivo *in vitro* de *Dendrobium* sp. verificaram que a utilização de 100 g L^{-1} ou 200 g L^{-1} de banana diminuiu o número de folhas dessa orquídea em relação aos meios sem esse aditivo.

Araújo et al. (2006), avaliando o desenvolvimento de plântulas *in vitro* de *C. loddgesii* x *C. loddgesii* "Alba", observaram maiores valores de número e comprimento de raiz em meio de cultura contendo 60 g L^{-1} a 100 g L^{-1} de polpa de banana. Assim como Gonçalves et al. (2016), estudando um híbrido de *Laelio cattleya* relataram que a adição de polpa de banana ao meio de cultivo, aumentou o número de raízes. Esse efeito pode ser devido à composição da polpa de banana que é rica em aminoácidos, vitaminas e reguladores de crescimento (GEORGE, 2008).

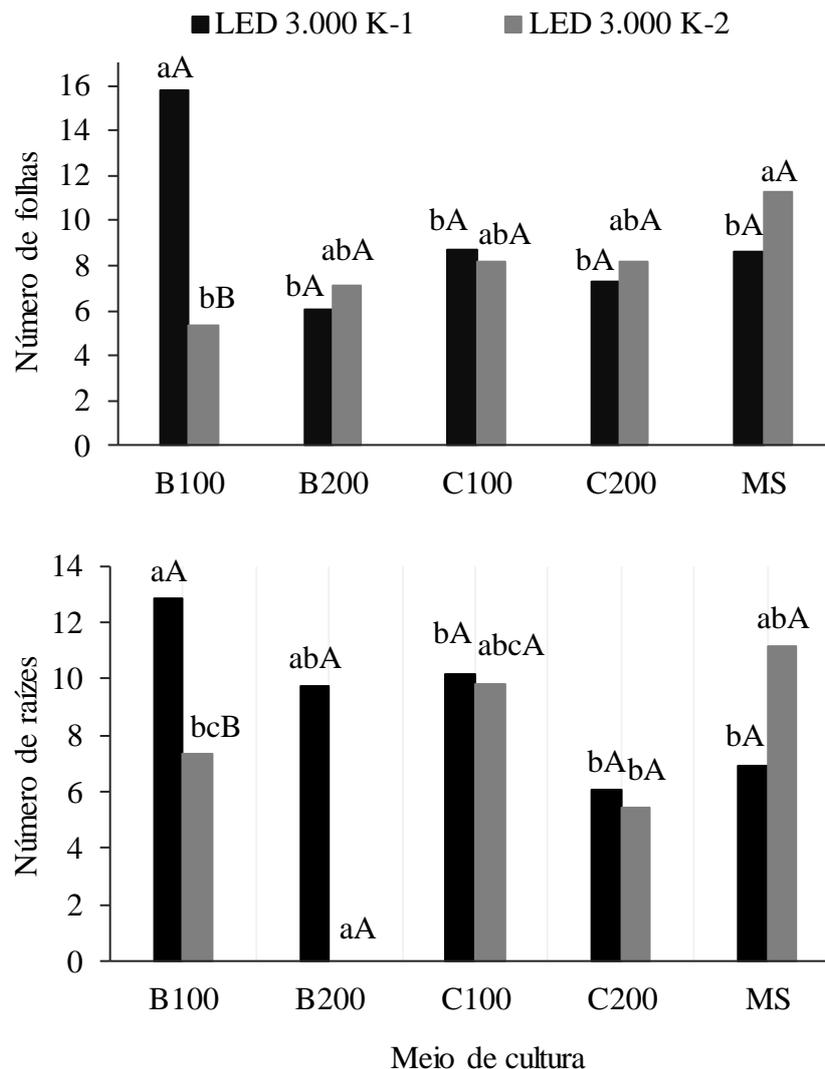


Figura 1. Número de folhas (A) e número de raízes (B) de *Cattleya nobilior* Rchb.f. em função do meio de cultura e irradiância estudados. UFGD, Dourados-MS, 2019. B100=100g de polpa de banana; B200= 200g de polpa de banana; C100= 100g de casca de banana; C200= 200g de casca de banana; MS= Murashige & Skoog (1962); LED 3000K-1 ($43 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ou LED 3000 K-2 ($86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). * Letras minúsculas entre os meios de cultura na mesma irradiância e letras maiúsculas no mesmo de cultura e em irradiâncias diferentes (Tukey $p < 0,05$).

Em relação ao efeito isolado do sistema de micropropagação, para NF e NP os maiores resultados foram observados em SC, apresentando 9,72 folhas e 2,43 pseudobulbos (Tabela 7). Este fato está relacionado com o perfilamento dessas plantas quando cultivadas sob vedação hermética dos frascos, uma vez que esta ocasiona aumento de gás etileno juntamente com as altas concentrações de CO_2 . Isso pode ocasionar mudanças fisiológicas nas plantas, diferenciação e crescimento dos tecidos, além de indução e diferenciação de órgãos (SILVA et al., 2014; TEIXEIRA da SILVA et al., 2017). E neste trabalho, pode ter contribuído para formação de brotos e folhas.

Tabela 7. Número de folhas e número de pseudobulbos de *Cattleya nobilior* Rchb.f. em função dos sistemas de micropropagação estudados. UFGD, Dourados-MS, 2019.

SM	NF	NP
SVN	7,59 b	1,84 b
SC	9,72 a	2,43 a
Média	8,65	2,13
C.V. (%)	25,60	20,20

Médias seguidas da mesma letra em cada variável não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). SM= sistemas de micropropagação; NF= número de folhas; NP= número de pseudobulbos; SVN= sistema de ventilação natural; SC= sistema convencional.

De acordo com os resultados observados, plântulas de *C. nobilior* apresentaram maior crescimento com a utilização sistema de ventilação natural, adição de polpa ou casca de banana e a utilização de lâmpadas LED 3000K, sendo fatores que proporcionaram condições favoráveis na promoção do crescimento *in vitro* (Figura 2). Uma explicação para este fato, de acordo com Silva et al. (2016), é que sistemas de micropropagação que permitem trocas gasosas entre o microambiente dentro do frasco e o ar atmosférico, acabam por diminuir o acúmulo de gás etileno e CO₂, favorecendo o crescimento dos órgãos das plantas no cultivo *in vitro*.

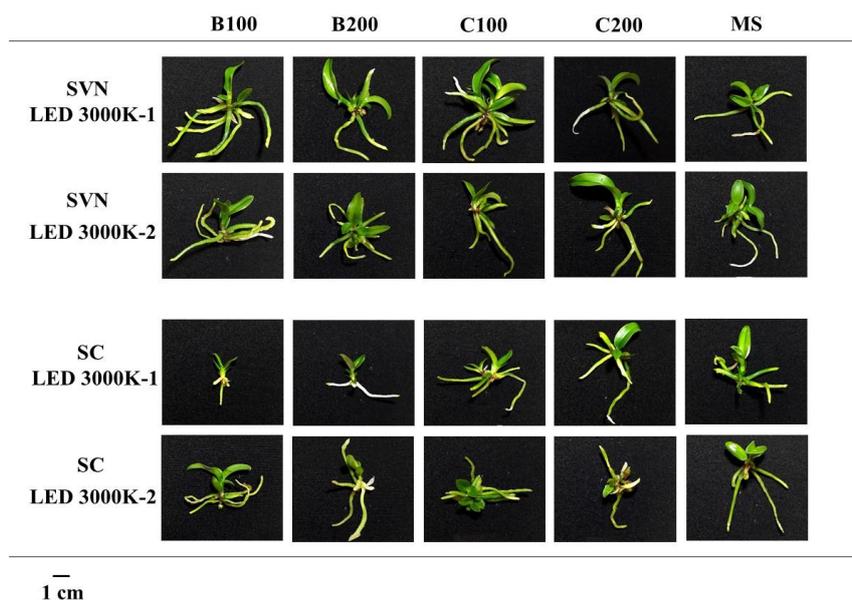


Figura 2. Plantas de *Cattleya nobilior* Rchb.f. 90 dias após o início do período experimental em função da formulação do meio de cultura (B100 = 100g de polpa de banana; B200 = 200g de polpa de banana; C100 = 100g de casca de banana; C200 = 200g de casca de banana; MS = Murashige & Skoog (1962)), Sistemas de micropropagação (SVN = sistema de ventilação natural e SC = sistema convencional) e Irradiâncias (LED 3000K-1 ($43 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ou LED 3000 K-2 ($86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)). UFGD, Dourados-MS, 2019.

5. CONCLUSÃO

A utilização da polpa e da casca de banana como aditivos na formulação dos meios de cultura promovem o crescimento de *C. nobilior* sob cultivo *in vitro*.

A utilização do sistema de ventilação natural promove o incremento em altura, diâmetro e comprimento de *C. nobilior*, enquanto que o sistema convencional promove o perfilhamento.

O fornecimento de luz por lâmpadas LED 3000K, independente da irradiância, tem influência positiva no crescimento *in vitro* de *C. nobilior*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, A. G., PASQUAL, M., PEREIRA, A. R., ROCHA, H. S. Crescimento *in vitro* de *Laelia tenebrosa* (Orquidaceae) em diferentes concentrações de sais de Knudson C e carvão ativado. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v.2, n.2, p.53-106, 2006.
- ARAÚJO, R. **Orquídeas brasileiras**. Editora Europa, p. 79, 2016.
- ARAÚJO, S. A. C.; DEMINICIS, B. B. Fotoinibição da Fotossíntese. **Revista Brasileira de Biociências**, v.7, n.4, p.463-472, 2009.
- ARDITII, J. ERNST, R. Micropropagation of orchids. "**A Wiley - Interscience publication**", p. 680, 1992.
- BARROS, F.; HALL, C. F.; PAIVA NETO, V. B.; BATISTA, J. A. N. Check-list das Orchidaceae do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. **Iheringia Série Botânica**, v.73, p.287-296, 2018.
- BARROS, F.; VINHOS, F.; RODRIGUES, V. T.; BARBERENA, F. F. V. A.; FRAGA, C. N., PESSOA, E. M.; FORSTER, W. MENINI NETO, L.; FURTADO, S. G.; NARDY, C.; AZEVEDO, C. O.; GUIMARÃES, L. R. S. Orchidaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. 2019. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB179>>. Acesso em: 10 maio. 2019.
- CALVETE, E. O.; AZEVEDO, M.; BORDIGNON, M. H.; SUZIN, M. Análises anatômicas e da biomassa em plantas de morangueiro cultivadas *in vitro* e *ex vitro*. **Revista Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 649-653, 2002.
- CARDOSO, J. C. Publicação em cultivo *in vitro* de plantas: qualidade para o avanço científico e tecnológico. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 4, p.383-384, 2014.
- FARIA, R. T.; ASSIS, A. M.; CARVALHO, J. F. R. P. **Cultivo de orquídeas**. Londrina: Mecenias, p. 208, 2010.
- FARIA, R. T.; ASSIS, A. M.; UNEMOTO, L. K.; CARVALHO, J. F. R. P. **Produção de orquídeas em laboratório**, p. 124, 2012.
- FERREIRA, W. M.; SUZUKI, R. M. O cultivo *in vitro* de orquídeas como alternativa para a preservação de espécies nativas ameaçadas de extinção. In: LOIOLA, M. I. B.; BASEIA, I. G.; LICHSTON, J. E. (Org.) **Atualidades, desafios e perspectiva da botânica no Brasil**. 1.ed. Natal: Imagem Gráfica, 2010. p. 67-68.
- GALDIANO JÚNIOR, R. F.; MANTOVANI, C; CASSANO, A. O.; LEMOS, E. M. Desenvolvimento inicial e crescimento *in vitro* de *Cattleya violaceae* (Kunth) Rolfe em diferentes concentrações de sacarose. **Acta Amazônica**, v.43, n.2, p.127-134, 2013.
- GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; KLERK, G. J. Plant propagation by tissue culture. **The Background**, v.1, n.3, p.501, 2008.

GONÇALVES, L. M.; MACHADO, P. S.; DE FÁTIMA, M.; BALLESTA, P.; MORA, F.; MILANEZE GUTIERRE, M. A.; MANGOLIN, C. A. Suplementos orgânicos para el cultivo *in vitro* del híbrido *Laelio cattleya* (Orchidaceae). **Idesia (Arica)**, v.34, n.1, p.47-54, 2016.

GUPTA, S. D.; JATOTHU, B. Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in *in vitro* plant growth and morphogenesis. **Plant Biotechnology Reports**, v.7, n.3, p.211-220, 2013.

HERRMAN, M. H.; FREITAS, E. M.; PÉRICO, E. Cultivo *in vitro* de plântulas de orquídea em meio de cultura alternativo. **Revista Brasileira Agrociência**, v.17, p.162-166, 2011.

HUNG, C. D.; HONG, C. H.; KIM, S. K.; LEE, K. H.; PARK, J. Y.; NAM, M. W.; CHOI, D. H.; LEE, H. I. LED light for *in vitro* and *ex vitro* efficient growth of economically important highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). **Acta Physiologiae Plantarum**, v.38, n.6, p.104, 2016.

ISLAM, M. O.; ISLAM, M. S.; SALEH, A. Effect of banana extract on growth and development of protocorm like bodies in *Dendrobium* sp. Orchid. **The Agriculturists**, v.13, n.1, p.101-108, 2015.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. Intellectual property rights in Brazilian floriculture: innovations for the growth and development of the market. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.23, n.3, p.296-306, 2017.

KOZAI, T. Photoautotrophic micropropagation - Environmental control for promoting photosynthesis. **Propagation of Ornamental Plants**, p.188-204, 2010.

LIAN, M.; MURTHY, H. N.; PAEK, K. Effects of light emitting diodes (LEDs) on the *in vitro* induction and growth of bulblets of *Lilium oriental* hybrid 'Pesaro'. **Scientia Horticulturae**, v.94, p.365-370, 2002.

MENGXI, L.; ZHIGANG, X.; YANG, Y.; YIJIE, F. Effects of different spectral lights on *Oncidium* PLBs induction, proliferation, and plant regeneration. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.106, p.1-10, 2011.

MOHAMED, M. A. H.; ALSADON, A. A. Influence of ventilation and sucrose on growth and leaf anatomy of micropropagated potato plantlets. **Scientia Horticulturae**, v.123, p.295-300, 2010.

MOREIRA, A. L.; SILVA, A. B.; SANTOS, A.; REIS, C. O. LANDGRAF, P. R. C. *Cattleya walkeriana* growth in different micropropagation systems. **Revista Ciência Rural**, v.43, n.10, p.1804-1810, 2013.

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.

OSTETTO, S. **Orquídeas de Mato Grosso do Sul**, p. 141, 2015.

ROBERTS, D. L.; DIXON, K. W. Orchids. **Current Biology**. v.18, p.325-329, 2008.

ROCHA, P. S. G.; OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTAROL, W. B.; SANTOS, U. L. Diodos emissores de luz e concentrações (LEDs) na micropropagação de *amoreira-preta* cv. *Tupy*. **Horticultura Argentina**, v.32, p.14-19. 2013.

SEON, K. M.; KIM, D. H.; KANG, K. W. Highly competent *in vitro* propagation of *Thrixspermum japonicum* (Miq.) Rchb.f., a rare epiphytic orchid. **In Vitro Cellular & Developmental Biology- Plant**. v.54, p.302-308. 2018.

SILVA, A. B.; LIMA, P. P.; OLIVEIRA, L. E. S.; MOREIRA, A. L. *In vitro* growth and leaf anatomy of *Cattleya Walkeriana* (Gardner, 1839) grown in natural ventilation system. **Revista Ceres**, v.61, n.6, p.883-890, 2014.

SILVA, A. B.; REIS, C. O.; CAZETTA, J. O.; CARLIN, S. D.; LANDGRAF, P. R. C.; REIS, M. C. Effects of exogenous proline and a natural ventilation system on the *in vitro* growth of orchids. **Bioscience Journal**, v.32, n.3, p.619-626, 2016.

SOARES, J. S. Técnicas de cultivo *in vitro* como alternativa para conservação de *Schmbergkia crispa* Lindl. (Orchidaceae) e sua reintrodução em ambiente natural. **Tese (Doutorado) - recursos naturais** - Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, 2018.

SORGATO, J. C.; LEMES, C. S. R.; RAMOS, W. B.; SOARES, J. S.; ROSA, Y. B. C. J. Ácido naftalenoacético no enraizamento *in vitro* de *Dendrobium phalaenopsis* Fitzgerald. **Enciclopédia Biosfera**, v.10, p.72-79, 2014.

SU, M. J.; SCHINITZER, J. A.; FARIA, R. T. Polpa de banana e fertilizantes comerciais no cultivo *in vitro* de orquídea. **Científica**, v.40, n.1, p.28-34, 2012.

SUZUKI, R. M. Breve análise sobre o comércio exterior de orquídeas no Brasil. In: 21ª Reunião Anual do Instituto de Botânica, 2014. São Paulo. **Anais...** São Paulo: Instituto de Botânica. 2014. p.1-4.

SUZUKI, R. M.; ALMEIDA, V.; PESCADOR, R.; FERREIRA, W. M. Germinação e crescimento *in vitro* de *Cattleya bicolor* Lindley (Orchidaceae). **Hoehnea**, v.37, p.731-742, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia Vegetal**. 6.ed, p. 918, 2017.

THE PLANT LIST: A WORKING LIST OF ALL PLANT SPECIES. 2019. Disponível em: < <http://www.theplantlist.org/>>. Acessado em: 15 maio/2019.

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

TEIXEIRA DA SILVA, J. A.; TSAVKELOVA, E. A.; NG, T. B.; PARTHIBHAN, S.; DOBRÁNSZKI, J.; CARDOSO, J. C.; RAO, M. V.; ZENG, S. Asymbiotic *in vitro* seed propagation of *Dendrobium*. **Plant cell reports**, v.34, n. 1, p.1685-1706, 2015.

VIEIRA, J. G. Z.; UNEMOTO, L. K.; YAMAKAMI, J. K.; NAGASHIMA, G. T.; FARIA, R. T.; AGUIAR, R. S. Propagação *in vitro* e aclimatização de um híbrido de *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) utilizando polpa de banana e água de coco. **Científica**, v.37, p.48-52, 2009.

YEH, N.; CHUNG, J. P. High-brightness LEDs: energy efficient lighting sources and their potential in door plant cultivation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.13, n.8, p.1-6, 2009.

YEUNG, E. C.; PARK, J.; HARRY, I. S. Orchid Seed Germination and Micropropagation I: Background Information and Related Protocols. In: **Orchid Propagation: From Laboratories to Greenhouses - Methods and Protocols**. Humana Press, p.101-125, 2018.

ZAHARA, M.; DATTA, A.; BOONKORKAEN, P.; MISHRA, A. The effects of different media, sucrose concentrations and natural additives on plantlet growth of *Phalaenopsis* hybrid 'Pink'. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.60, 2017.

ZHANG, S.; YANF, Y.; LI, J.; QIN, J.; ZHANG, W.; HU, H. Physiological diversity of orchids. **Plant diversity**, v.40, n.4, p.196-208, 2018.