

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS**

**FONTES DE LUZ NA GERMINAÇÃO ASSIMBIÓTICA E  
ESTABELECIMENTO INICIAL *in vitro* DE *Schomburgkia*  
*crispa* Lindl.**

ERICK DUTRA MUDOLON  
FERNANDO FIGUEIREDO GUIMARÃES

DOURADOS  
MATO DROSSO DO SUL  
2018

**FONTES DE LUZ NA GERMINAÇÃO ASSIMBIÓTICA E  
ESTABELECIMENTO INICIAL *in vitro* DE *Schomburgkia crispa*  
Lindl.**

ERICK DUTRA MUDOLON  
FERNANDO FIGUEIREDO GUIMARÃES

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 Sul  
2018

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

M945f Mudolon, Erick Dutra

Fontes de luz na germinação assimbiótica e estabelecimento inicial in vitro de Schomburgkia crispa Lindl. / Erick Dutra Mudolon, Fernando Figueiredo Guimarães -- Dourados: UFGD, 2018.

27f. : il. ; 30 cm.

Orientador: José Carlos Sorgato

TCC (Graduação em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados.

Inclui bibliografia

1. Diodo emissor de luz. 2. Micropropagação. 3. Orchidaceae. 4. Horticultura ornamental. I Fernando Figueiredo Guimarães II. 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.**

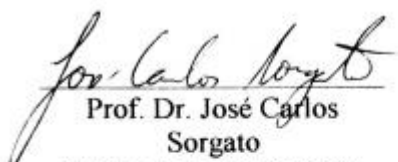
**FONTES DE LUZ NA GERMINAÇÃO ASSIMBIÓTICA E ESTABELECIMENTO INICIAL *in vitro* DE *Schomburgkia crista* Lindl.**

por

ERICK DUTRA MUDOLON  
FERNANDO FIGUEIREDO GUIMARÃES

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

Aprovado em: 11/07/2018

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

  
Prof. Dra. Cláudia Roberta  
Damiani  
UFGD/FCBA

  
Msc. Luan Marlon Ribeiro  
UFGD/FCA

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente a Deus pelo dom da vida, a nossas famílias por toda dedicação e paciência. Agradecemos ao professor José Carlos Sorgato, ao Luan Marlon Ribeiro e a Jackeline Schultz Soares por terem nos dado suporte durante todo o desenvolvimento do trabalho, agradecemos também a nossos amigos, Aline Jessica de Souza Konell, Alyson Felipe Canhete, Anderson Garetta Cabral, Estevão Honorato e Leidiomar Rodrigues Santos, Leandro Escobar Dalarosa, irmãos na amizade que fizeram parte de nossa formação e que vão continuar presentes em nossas vidas. Agradecemos também a Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados por toda estrutura necessária para o desenvolvimento do trabalho.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vi</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>8</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>10</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>13</b>
3.1 Local e período .....	13
3.2 Coleta e desinfestação dos frutos .....	13
3.3 Teste de viabilidade das sementes .....	13
3.4 Procedimentos para semeadura assimbiótica .....	14
3.5 Tratamentos experimentais.....	15
3.6 Procedimentos para avaliação da semeadura assimbiótica .....	15
3.7 Procedimentos para avaliação do crescimento e estabelecimento inicial ....	15
3.8 Delineamento experimental.....	16
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	<b>23</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>24</b>

MUDOLON, E. D.; GUIMARÃES, F. F. **Fontes de luz na germinação assimbiótica e estabelecimento inicial *in vitro* de *Schomburgkia crispa* Lindl.** 2018. 27f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso), Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS.

## RESUMO

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes fontes de luz sobre a germinação e o estabelecimento inicial *in vitro* de *Schomburgkia crispa* Lindl. Foram utilizadas sementes provindas de frutos maduros de *S. crispa*, as quais foram avaliadas quanto à viabilidade pelo teste de tretrazólio, e dessecadas com sílica gel por 14 dias. Foi utilizado o meio de cultura MS ½ para germinação das sementes. Após a semeadura em ambiente asséptico, cinco frascos de cultivo foram levados para condição de viveiro telado ( $235 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), e os demais tratamentos foram acondicionados em sala de crescimento com temperatura e fotoperíodo controlados ( $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 16h) sob as seguintes condições de luz: LED amarelo 3000K ( $128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), LED branco fraco 6500K ( $58 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), LED branco forte 6500K ( $108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e lâmpada fluorescente branca 6500K ( $23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), utilizada como controle. Aos 45 e 90 dias após a semeadura foi avaliada a germinação e o estabelecimento inicial. Foi empregado o delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco repetições. Aos 45 dias após a semeadura observou-se que as condições de luz natural, lâmpada fluorescente branca e os LEDs: branco fraco e branco forte não apresentaram efeito sobre a germinação da *S. crispa*, e proporcionaram protocormos apenas em estágio 1. Plântulas em estágio 2, foram constatadas nas condições de luz LED amarelo e lâmpada fluorescente branca. Aos 90 dias após a semeadura, também não houve diferença estatística para as condições de luz sobre a porcentagem de germinação. O LED amarelo e a lâmpada fluorescente branca apresentaram melhores condições para estabelecimento inicial de plântulas em estágio 4. A utilização de LED amarelo no cultivo *in vitro* de *S. crispa*, proporcionou maior diferenciação dos propágulos em menor período de tempo e com menor mortalidade das plântulas em relação às demais fontes de luz.

Palavras-chave: Diodo emissor de luz, Micropropagação, Orchidaceae, Horticultura ornamental.

## ABSTRACT

This work was developed with the objective of evaluating the effect of different light sources on germination and initial establishment *in vitro* of *Schomburgkia crispa* Lindl. Seeds from mature fruits of *S. crispa* were used, which were evaluated for viability by tetrazolium test, and dried in silica gel for 14 days. MS ½ was used as culture media for seed germination. After sowing in the aseptic environment, five culture flasks were brought to the greenhouse ( $235\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). The remaining treatments were conditioned in a growth chamber with controlled temperature and photoperiod ( $25 \pm 2$  °C; 16h) under the following light conditions: yellow LED 3000K ( $128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), weak white LED 6500K ( $58 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), strong white LED 6500K ( $108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) and white fluorescent lamp 6500K ( $23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), used as control. Thereafter 45 and 90 days of sowing, germination and the initial establishment were evaluated. The experimental design was completely randomized with five replications. At 45 days after sowing, the conditions of natural light, white fluorescent lamp and LEDs: weak white and strong white had no effect on the germination of *S. crispa*, and provided protocorms only at stage 1. Seedlings at stage 2 were found under conditions of yellow LED light and white fluorescent lamp. At 90 days after sowing, there was also no statistical difference for the light conditions on the germination's percentage. The yellow LED and the white fluorescent lamp presented better conditions for initial establishment of seedlings at stage 4. The use of yellow LED for *in vitro* cultivation of *S. crispa* provided greater differentiation of the propagules in a shorter period and lower seedlings mortality compared to the others sources of light.

Keywords: Light emitting diode, Micropropagation, Orchidaceae, Ornamental horticulture.



## 1. INTRODUÇÃO

*Schomburgkia crispa* Lindl. é uma espécie de orquídea que apresenta hábito epifítico podendo ser encontrada tanto em florestas de galeria quanto em matas secas do Cerrado Brasileiro (MENDONÇA et al., 2008), inclusive no estado de Mato Grosso do Sul (OSTETTO, 2015; BARROS et al., 2018b). Além de algumas serem ornamentais, as orquídeas nativas brasileiras também podem possuir alguns compostos bioativos com aplicações terapêuticas, que são pouco conhecidas. Por meio de um estudo fitoquímico nessa espécie, foi isolado um composto, denominado ácido crispóico, o qual de acordo com Belloto et al, 2017 apresenta potencial anticarcinogênico.

A semeadura *in vitro* de orquídeas é uma ferramenta muito útil em estudos da biodiversidade, tendo em vista a conservação de espécies por meio da manutenção do banco de germoplasma, possibilitando alta porcentagem de germinação sem que as sementes passem por processos simbióticos. As espécies de orquídeas apresentam crescimento lento, o que torna demorada a produção de novas mudas, necessitando de um longo período para que atinjam o estágio reprodutivo. Portanto, a utilização deste tipo de cultivo é de suma importância, pois possibilita a obtenção de plantas em grande escala e em tempo relativamente curto e com alta qualidade o que contribui para diminuição do risco de extinção (FERREIRA e SUZUKI, 2008; CARDOSO, 2014).

Assim, a germinação, e o estabelecimento inicial do material vegetal cultivado *in vitro*, são influenciados por diversos fatores abióticos, destacando-se a composição espectral e irradiância que é fornecida durante essas fases, já que, a luz é fundamental para a fotossíntese e fotomorfogênese nas plantas (SORGATO et al., 2015; TEIXEIRA da SILVA et al. 2015; TAIZ et al., 2017).

Uma alternativa para esse tipo de cultivo pode ser a produção de plantas em ambiente de luz natural, substituindo a luz artificial, cujas vantagens vêm sendo estudadas por diversos pesquisadores (KODYM e ZAPATA-ARIAS 1999; COSTA et al., 2009; DIGNART et al., 2009; BORGES et al, 2011; SILVA JÚNIOR et al, 2012).

A tecnologia da utilização do diodo emissor de luz (LED) oferece muitas possibilidades na iluminação hortícola, devido à sua capacidade de separar e misturar diferentes espectros de luz, além de permitir ajustes de irradiância adequada aos fotorreceptores das plantas (SINGH et al., 2015). Permitindo através dessas

propriedades, regular parâmetros de 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 e JATOTHU, 2013).

No entanto, ainda são poucos os estudos científicos utilizando luz natural ou lâmpadas LEDs como fontes de energia luminosa no cultivo *in vitro* de orquídeas, e também não são claros os efeitos da qualidade espectral e de níveis de irradiância sobre a germinação, crescimento e estabelecimento inicial do material vegetal propagado.

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de diferentes fontes de luz sobre a germinação e o estabelecimento inicial *in vitro* de *Schomburgkia crispa* Lindl.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

Entre as monocotiledôneas, Orchidaceae é considerada a maior família, uma vez que possui aproximadamente 850 gêneros, cerca de 35.000 espécies e mais de 120.000 híbridos, presente em quase todos os continentes, exceto nos pólos Ártico e Antártico (STOUTAMIRE, 1964; DRESSLER, 2005; KERBAUY, 2011; FARIA et al., 2012). No Brasil, se encontram 238 gêneros e 2.553 espécies e, dessas, 1.636 endêmicas (BARROS et al., 2018a).

*Schomburgkia crisper* Lindl. é uma epífita, nativa de matas de galeria e matas secas do Cerrado (MENDONÇA et al., 2008) e pode ser encontrada no estado de Mato Grosso do Sul (OSTETTO, 2015; BARROS et al., 2018b). A espécie apresenta pseudobulbos bifoliados entre 8 a 10 cm, folhas com 24 a 26 cm de comprimento e 5 a 7 cm de largura. As inflorescências têm em média 95 a 110 cm, apresentando sépalas e pétalas castanhas com margens onduladas e amarelas (Figura 1) (BARROS et al., 2018a). Sua propagação pode ser realizada assexuadamente através de brotações laterais formadas a partir dos pseudobulbos e por divisão de touceiras, ou de forma sexuada, sendo esta a mais utilizada quando se deseja produzir grande número de plantas em tempo relativamente curto, o que pode garantir alta qualidade fitossanitária (LORENZI e SOUZA, 2008; FARIA et al., 2010; CARDOSO, 2014).

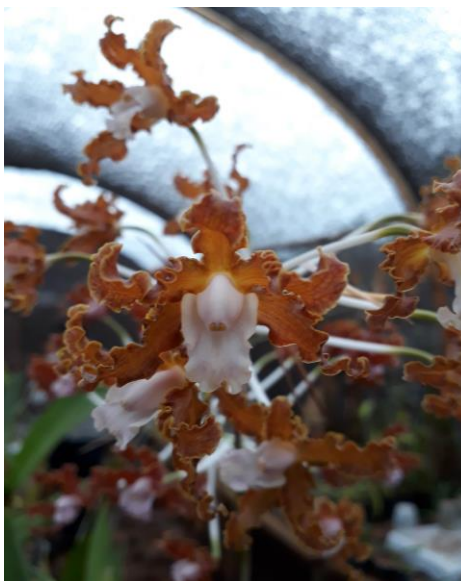


Figura 1: *Schomburgkia crisper* Lindl. Aspecto morfológico da flor. Foto: Erick D. Mudolon.

O comércio mundial de orquídeas movimenta cerca de US\$ 60 bilhões anuais devido ao seu valor ornamental (MARTSYNOVSKA, 2011; SUZUKI, 2014), o que pode resultar na extração, ilegal e irracional da natureza, proporcionando o empobrecimento gradativo da biodiversidade (MENEZES 1985; MENEZES 1987; CARNEIRO et al. 2001). A espécie *S. Crispa*, em janeiro de 2017, entrou na lista de espécies vulneráveis a extinção, conforme apêndice II da Convenção sobre Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção (CITES, 2017). Dessa forma seu comércio deve ser fiscalizado, para que o seu uso seja compatível com sua sobrevivência.

A multiplicação rápida e eficiente de orquídeas, visando à preservação das espécies ameaçadas ou não de extinção, tanto para pesquisa quanto para a produção em escala comercial, pode ser realizada através de técnicas de cultivo *in vitro* (CARDOSO, 2014; SORGATO et al., 2014). Dentre as técnicas, a germinação assimbiótica de sementes de orquídeas se destaca, pois, esse tipo de semeadura apresenta elevados percentuais de germinação quando comparada à germinação sob condições naturais, a qual é dependente de fungos micorrízicos, constituindo, dessa maneira uma alternativa viável para propagação dessas plantas (FARIA et al., 2012; ABRÃO et al., 2014).

Nesse tipo de cultivo, as fontes de luz mais utilizadas em salas de crescimento, geralmente são lâmpadas fluorescentes brancas de amplo espectro (350 – 750 nm) e irradiância em torno de  $20 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (KÄMPF, 2005; CID e TEIXEIRA, 2010). Porém, esta fonte de energia proporciona baixa irradiância, e picos de comprimentos de onda pouco efetivos para a promoção do crescimento, desenvolvimento e estabelecimento das plantas. Nesta condição, podem ocorrer alterações fotomorfogênicas, principalmente na formação dos tecidos do mesófilo e da epiderme, e na ineficiência do mecanismo de abertura e fechamento estomático, comprometendo sua funcionalidade (REZENDE et al., 2008; FARIA et al., 2012). Essas alterações morfofisiológicas afetam a sobrevivência das plantas quando são transferidas de condições *in vitro* para o ambiente *ex vitro*, o qual apresenta elevada demanda evaporativa, podendo ocasionar a desidratação das plantas produzidas, com conseqüente morte ou atraso no processo de crescimento e estabelecimento (LAVANYA et al., 2009; CHANDRA et al., 2010).

Outra fonte de luz que pode ser utilizada é a luz natural, podendo ser uma alternativa vantajosa, uma vez que as instalações para os ambientes de cultivo geralmente são simplificadas, diminuindo custos com a construção de salas de

crescimento. Além disso, o consumo de energia elétrica é menor, já que não há demanda de energia para a iluminação artificial e sistemas de refrigeração (KODYM e ZAPATA-ARIAS, 1999).

A luz emitida por diodo (LED) vem sendo utilizado como uma alternativa para sistemas de iluminação convencionais e tem sido demonstrado através de pesquisas que podem ser utilizados como fonte de luz artificial para a cultura de tecidos de plantas, promovendo resultados satisfatórios (YEH e CHUNG, 2009). Através das propriedades espectrais dos LEDs é possível regular 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 e JATOTHU, 2013).

O LED é um dispositivo semicondutor composto basicamente por silício, que emite luz de estreito espectro quando energizado (BOURGET, 2008). Destacam-se como fontes de luz por possuírem longos períodos de vida útil (50.000h), comprimento de onda específico, massa e volume pequenos, além da alta eficiência no processo de geração de luz (60%) com baixa produção de calor, reduzindo o custo com resfriamento do ambiente, e conseqüentemente, menor consumo de energia elétrica na sala de crescimento (YEH e CHUNG, 2009; ROCHA et al., 2013).

As novas tecnologias utilizadas na produção de flores e plantas ornamentais requerem o refinamento das técnicas e melhores condições de cultivo *in vitro*, uma vez que, busca-se na horticultura ornamental a obtenção de mudas de melhor qualidade, produção em larga escala, em menor tempo e com valores mais competitivos de mercado.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Local e período

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultivo *in vitro* da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), durante o período de fevereiro de 2018 a julho de 2018.

#### 3.2 Coleta e desinfestação dos frutos

Como material vegetal utilizou-se sementes provenientes de frutos da orquídea *Schomburgkia crispa* Lindl., oriundos de autopolinização destacados com auxílio de uma tesoura de poda manual das matrizes e posteriormente levados para o laboratório de cultivo *in vitro* da FCA/UFGD, onde passaram por desinfestação com solução de álcool etílico 70% e foram abertos com auxílio de bisturi, sendo as sementes de diferentes frutos homogeneizadas, avaliadas quanto à viabilidade e posteriormente acondicionadas em dessecador com sílica gel ( $25 \pm 2$  °C; 75% UR) por 14 dias.

#### 3.3 Teste de viabilidade das sementes

Após esse período, realizou-se o teste de tetrazólio, seguindo metodologia proposta por Soares et al. (2014), segundo a qual, três porções de sementes, de 5 mg cada, colocadas em tubos de ensaio e cada uma delas receberam 3 mL de solução aquosa de cloreto de trifênil tetrazólio (0,5%). As suspensões de sementes foram acondicionadas em ambiente desprovido de luz, em temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C). Após 24 horas, as suspensões de tetrazólio receberam acréscimo de 7 mL de água destilada estéril e agitadas, sendo pipetado 1 mL para identificação e contagem de sementes potencialmente viáveis em placas de acrílico (2 x 2 x 0,5 cm), quadriculadas (0,5 x 0,5 cm), com o auxílio de microscópio estereoscópico binocular. Consideraram-se como viáveis as sementes com embriões totalmente coloridos de carmim, enquanto que as sementes com embriões incolores, parcialmente corados ou desprovidas de embrião foram consideradas inviáveis. Para cada amostra foi realizado três leituras, sendo posteriormente calculada a média entre elas, sendo identificadas 71,30% de sementes viáveis (Figura 2).

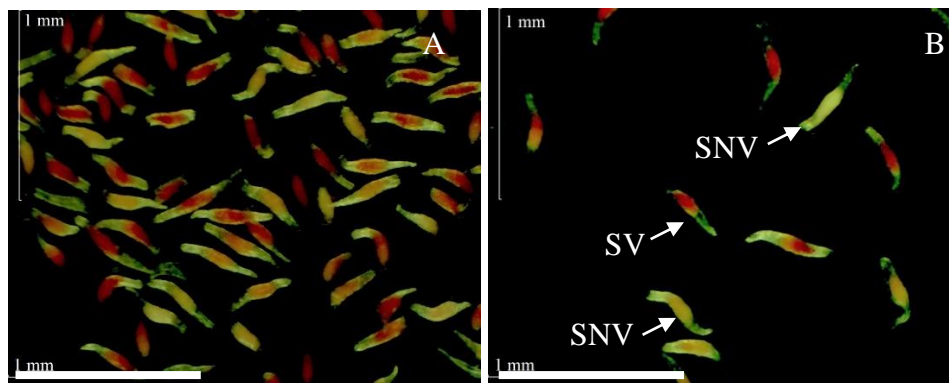


Figura 2. Sementes viáveis (SV) e não viáveis (SNV) de *Schomburgkia crisper* Lindl., após teste de viabilidade. A = Aspecto geral do teste de viabilidade das sementes de *S. crisper*; B = Detalhe das sementes viáveis e não viáveis da espécie. Barra de escala = 1 mm. UFGD, Dourados / MS, 2018.

### 3.4 Procedimentos para semeadura assimbiótica

Como meio de cultura, utilizou-se para germinação das sementes, o meio MS  $\frac{1}{2}$  (MURASHIGE e SKOOG, 1962), solidificado com  $7,0 \text{ g L}^{-1}$  de ágar bacteriológico (Himedia®, Índia) e suplementado com  $30 \text{ g L}^{-1}$  de sacarose. O pH do meio foi aferido e ajustado para 5,8 utilizando-se KOH (0,1M) e na sequência distribuído em frascos de polipropileno com tampa rosqueável com capacidade de 50 mL (altura = 5 cm e diâmetro da boca = 5 cm), sendo que cada frasco recebeu 20 mL do referido meio de cultivo. Posteriormente, os frascos foram esterilizados em autoclave a  $120 \text{ }^\circ\text{C}$  e 1 atm de pressão, por 20 minutos. Após o resfriamento os frascos foram transferidos para ambiente estéril.

Em seguida, pesaram-se 10 mg de sementes de *S. crisper* e as sementes foram levadas para ambiente asséptico e desinfestadas conforme metodologia descrita por Sorgato (2016), onde, permaneceram imersas na solução de hipoclorito de sódio a 0,8% (15mL) por cinco minutos (5'). Posteriormente, a suspensão de sementes foi diluída para 100 mL com água destilada estéril e em seguida recebeu tríplice lavagem com água destilada estéril (80 mL por lavagem). Após este procedimento o volume da suspensão foi completado para 100 mL com água destilada estéril para a semeadura *in vitro*. A semeadura foi realizada com o auxílio de um pipetador automático inoculando-se 1000  $\mu\text{L}$  da suspensão de sementes por frasco.

### 3.5 Tratamentos experimentais

Após a inoculação, cinco frascos foram levados para condição de viveiro telado com sobreposição de duas telas de sombreamento de 50%, propiciando irradiância de  $235 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , sob condições médias de temperatura e umidade relativa de  $22,6 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $73,9 \pm 10\%$ , respectivamente. Os demais frascos foram acondicionados em sala de crescimento com temperatura e fotoperíodo controlados ( $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 16h) sob as seguintes condições de luz: LED amarelo 3000K ( $128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), LED branco fraco 6500K ( $58 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), LED branco forte 6500K ( $108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e lâmpada fluorescente branca 6500K ( $23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), utilizada como controle.

### 3.6 Procedimentos para avaliação da semeadura assimbiótica

Quarenta e cinco dias após a semeadura foi avaliada a porcentagem de germinação da espécie estudada. Os materiais contidos nos frascos foram lavados com 3 mL de água destilada estéril e acondicionados em placas de acrílico ( $2 \times 2 \times 0,5 \text{ cm}$ ), quadriculadas ( $0,5 \times 0,5 \text{ cm}$ ). Este procedimento foi repetido até não restar nenhuma semente ou propágulo no frasco de cultivo. Com auxílio de microscópio estereoscópico binocular foram contados o número de sementes não germinadas (NS) e o número de propágulos clorofilados (PC) (Figura 3A). A porcentagem de germinação (%G) foi calculada pela seguinte expressão:  $\%G = [PC / (NS + PC)] \times 100$ . Após a contagem, os tratamentos foram fotografados com câmera acoplada ao microscópio estereoscópico, com auxílio do programa computacional AxionVision versão 3.1 (Zeiss®).

### 3.7 Procedimentos para avaliação do crescimento e estabelecimento inicial

As avaliações de crescimento e estabelecimento inicial, foram realizadas aos 45 e 90 dias após a semeadura, seguindo metodologia descrita por Suzuki et al. (2009), sendo consideradas as seguintes classes morfológicas: Estádio 1= protocormo intumescido clorofilado; Estádio 2= plântula com formação da primeira folha; Estádio 3= plântula com duas folhas; Estádio 4= plântula com folhas e uma ou mais raízes (Figura 3). Também foi contabilizado o número de propágulos não clorofilados (PNC) (Figura 4). Após as avaliações, os tratamentos foram fotografados com câmera acoplada ao microscópio estereoscópico, com auxílio do programa computacional AxionVision versão 3.1 (Zeiss®).



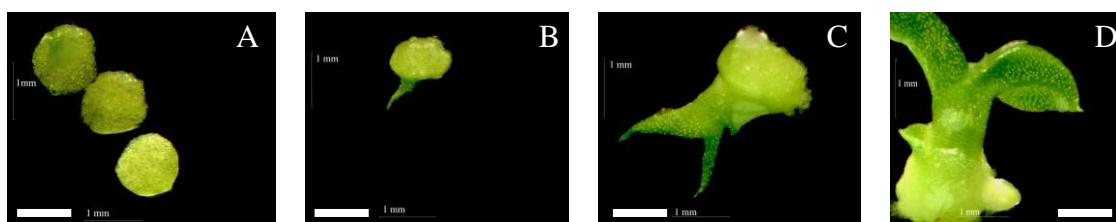


Figura 3. Estádios de estabelecimento inicial de *Schomburgkia crispam* Lindl. A = protocormo em estágio 1; B = plântula em estágio 2; C = plântula em estágio 3 e D = plântula em estágio 4. Barra de escala = 1 mm. UFGD, Dourados / MS, 2018.

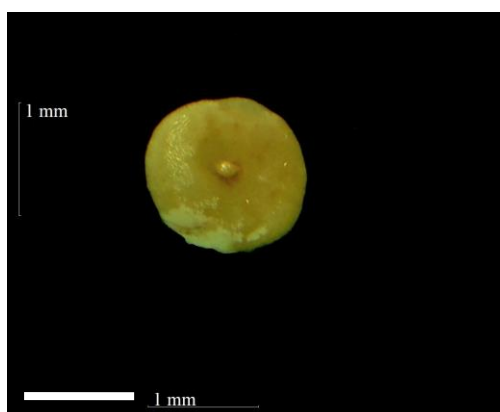


Figura 4. Protocormo não clorofilado de *Schomburgkia crispam* Lindl. Barra de escala = 1 mm. UFGD, Dourados / MS, 2018.

### 3.8 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições e cinco tratamentos. Os resultados foram transformados para  $\sqrt{(x+1)}$  e, a seguir, submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey até 5% de probabilidade com auxílio do programa SISVAR (Programa de Análises Estatísticas v.5.3. Universidade Federal de Lavras, MG).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito das condições de luz sobre todas as características avaliadas ( $p < 0,05$ ), exceto para a porcentagem de germinação. Todas as condições avaliadas propiciaram percentuais de germinação satisfatórios, sendo observada média geral de 98,35% (Tabela 1).

TABELA 1. Resumo da análise de variância da porcentagem de germinação (%G) e do estabelecimento inicial *in vitro*: protocormo estágio 1 (%P1), plântula em estágio 2 (%P2), propágulo clorofilado (%PC) e propágulo não clorofilado (%PNC) de *Schomburgkia crispa* Lindl. em diferentes condições de luz aos 45 dias após a semeadura. UFGD, Dourados / MS, 2018.

F.V.	G.L.	Quadrado Médio				
		%G	%P1	%P2	%PC	%PNC
Luz	4	5,24 <sup>ns</sup>	382,65 *	400,15 *	125,28 *	123,72 *
Erro	4	6,35	9,99	4,22	27,83	55,50
Total	16	139,39	1807,98	1685,14	1143,25	1477,49
Média geral		98,35	95,16	4,18	93,73	7,06
C.V. (%)		1,28	2,09	17,46	2,85	48,19

\*,<sup>ns</sup>; significativo e não significativo, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

F.V.: fator de variância; G.L.: grau de liberdade; M.G.: média geral.

Aos 45 dias o maior percentual de germinação foi observado com a utilização de LED amarelo. No entanto, não houve diferença estatística entre os tratamentos. Esses resultados sugerem que a luz não é um fator limitante para a germinação das sementes de *S. crispa*, uma vez que houve germinação em todas as condições testadas e baixa mortalidade, apresentando média geral de propágulos clorofilados de 93,73%. De acordo com Pérez (2016) a luz é um fator importante no estabelecimento inicial das orquídeas, porém para a espécie estudada neste trabalho não houve influência das condições de luz no processo de germinação (Tabela 2).

TABELA 2. Porcentagens de germinação (%G), propágulo clorofilado (%PC) e propágulo não clorofilado (%PNC), de *Schomburgkia crisper* Lindl. em diferentes condições de luz aos 45 dias após a semeadura. UFGD, Dourados / MS, 2018.

Condição de luz	%G	%PC	%PNC
Luz natural	97,93 a	99,48 a	0,52 b
LED amarelo	100,00 a	94,78 ab	5,22 ab
LED branco fraco	98,22 a	93,12 ab	6,88 ab
LED branco forte	97,22 a	85,81 b	14,19 a
Lâmpada fluorescente	98,38 a	95,47 ab	8,48 ab
Média geral	98,35	93,73	7,06
C.V. (%)	1,28	2,85	48,19

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Com relação ao estabelecimento inicial, observou-se que aos 45 dias a maioria dos propágulos apresentava-se em estágio 1, e as condições de luz natural, LED branco fraco ou LED branco forte proporcionaram 100% dos protocormos nesse estágio de estabelecimento. Quando as culturas foram submetidas ao LED amarelo ou lâmpada fluorescente branca, durante o mesmo período, foi observada a formação de plântulas até o estágio 2, sendo estes 20,18 e 0,74% do total destes tratamentos, respectivamente. Dessa forma, pode-se inferir que o uso de lâmpada LED amarelo em salas de crescimento pode promover melhores condições para o estabelecimento inicial de plântulas em um menor espaço de tempo (Figura 5).

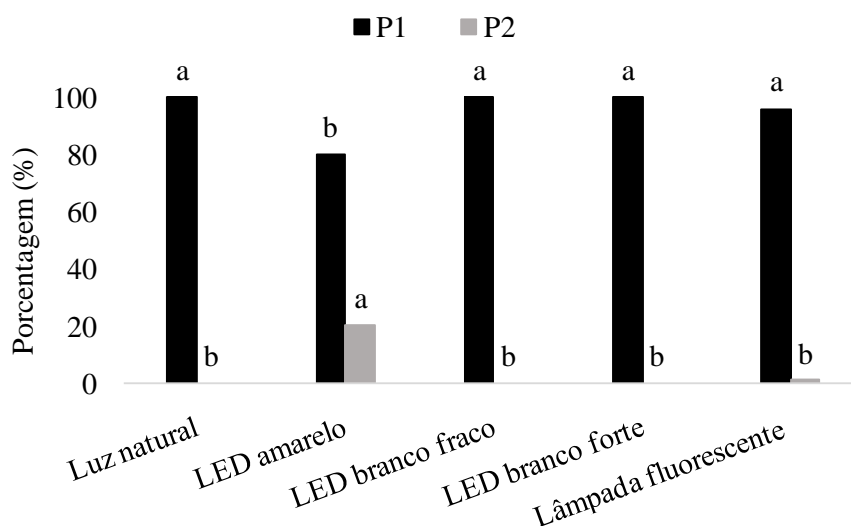


Figura 5. Porcentagem de protocormos em estágio 1 (P1) e de plântulas em estágio 2 (P2), de *Schomburgkia crispa* Lindl. em diferentes condições de luz aos 45 dias após a semeadura. UFGD, Dourados / MS, 2018. Barras seguidas da mesma letra no eixo x, não diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Aos 90 dias de cultivo *in vitro*, houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) das diferentes condições de luz apenas para os parâmetros de estabelecimento inicial dos propágulos de *S. crispa*. A média geral observada para germinação foi de 99,78% (Tabela 3).

TABELA 3. Resumo da análise de variância da porcentagem de germinação (%G) e do estabelecimento inicial *in vitro*: protocormo em estágio 1 (%P1), plântula em estágio 2 (%P2), plântula em estágio 3 (%P3), plântula em estágio 4 (%P4), propágulo clorofilado (%PC) e propágulo não clorofilado (%PNC), de *Schomburgkia crispa* Lindl. em diferentes condições de luz aos 90 dias após semeadura. UFGD, Dourados / MS, 2018.

F.V.	G.L.	Quadrado médio						
		%G	%P1	%P2	%P3	%P4	%PC	%PNC
Luz	4	1,17 <sup>ns</sup>	9398,65 *	4938,10 *	1395,51 *	1764,66 *	6221,41 *	6221,41 *
Erro	4	0,28	6,97	331,74	308,84	83,43	69,95	69,95
Total	16	10,32	37732,11	26116,91	10806,45	8588,96	26106,45	26106,45
M.G.		99,78	22,24	36,83	23,65	14,31	33,65	66,34
C.V. (%)		0,27	10,49	30,64	39,63	37,76	16,09	6,92

\*,<sup>ns</sup>; significativo e não significativo, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

F.V.: fator de variância; G.L.: grau de liberdade; M.G.: média geral.

Assim como os resultados observados aos 45 dias após a semeadura, a condição de luz também não influenciou a porcentagem de germinação aos 90 dias (Tabela 4).

TABELA 4. Porcentagem de germinação (%G) de *Schomburgkia crisper* Lindl. em diferentes condições de luz, aos 90 dias após sementeira. UFGD, Dourados / MS, 2018.

Condições de luz	%G
Luz natural	100,00 a
LED amarelo	100,00 a
LED branco fraco	100,00 a
LED branco forte	98,92 a
Lâmpada fluorescente	100,00 a
Média geral	99,78
C.V. (%)	0,27

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação ao estabelecimento inicial, aos 90 dias após a sementeira, a condição de luz LED branco forte proporcionou a menor diferenciação de protocormos em plântulas, apresentando 99,25% dos propágulos em estágio 1, o que permite associar este resultado à hipótese de estresse luminoso, uma vez que, em ambiente natural as orquídeas por estarem em condições de sub-bosque, recebem em média, entre 5 e 10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (SOARES, 2018), uma irradiância menor em comparação àquelas plantas em sala de crescimento submetidas ao LED branco forte (Figura 6).

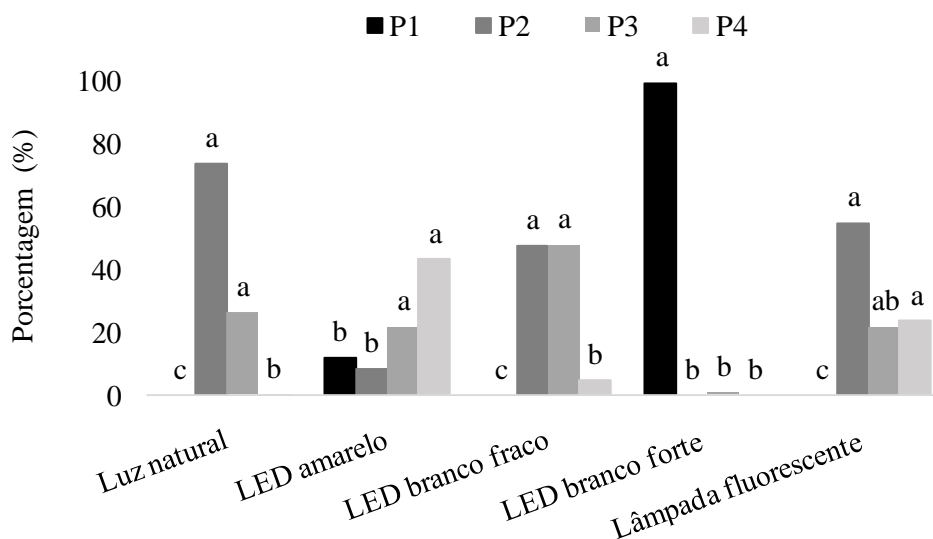


Figura 6. Porcentagem de protocormos em estágio 1 (P1) e plântulas em estágio 2; 3 e 4 (P2; P3; P4) no estabelecimento inicial de *Schomburgkia crisper* Lindl. aos 90 dias após a sementeira. UFGD, Dourados / MS, 2018. Barras seguidas da mesma letra no eixo x, não diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Araújo e Deminicis (2009) salientam ainda que a exposição prolongada de plantas ou organelas ao excesso de luz pode resultar na fotodestruição dos pigmentos

fotossintéticos, uma vez que a descoloração desses é dependente do oxigênio e da luz. Esse fenômeno é denominado de fotooxidação, podendo levar à morte da célula ou do organismo, fato que pode estar relacionado com a elevada mortalidade dos propágulos nesta condição de luz aos 90 dias.

As condições de lâmpadas fluorescentes brancas e LED amarelo propiciaram maior estabelecimento inicial de propágulos de *S. crispa*, apresentando 23,45 e 43,16% de plântulas estágio 4, respectivamente. A utilização do LED amarelo quando comparado com a lâmpada fluorescente branca apresentou 45,6% de aumento de plântulas em estágio 4, demonstrando que, além da possibilidade de redução de custos na propagação, essa fonte de luz acelera o crescimento no estabelecimento *in vitro* de *S. crispa*. O uso de lâmpadas LEDs apresenta vantagens em relação às lâmpadas fluorescente, como: menores variações morfológicas e fisiológicas em embriões, longo período de vida útil, alta eficiência no processo de geração de luz e baixa emissão de calor, demandando menos energia na sala de crescimento também em relação ao sistema de refrigeração (GUPTA e JATOTHU, 2013).

Embora o LED amarelo apresente irradiância maior que o LED branco forte, provavelmente essa condição de luz forneça comprimentos de onda de maior espectro, contribuindo assim para o desenvolvimento desses propágulos.

Nas culturas acondicionadas em viveiro telado, sob iluminação natural, foram observados 73,44% de plântulas em estágio 2 e 26,38% em estágio 3. Apenas 0,18% dos propágulos chegaram ao estágio 4, aos 90 dias de cultivo. Isso evidencia que o estabelecimento inicial *in vitro* dessa espécie, sob tais condições, é mais demorado do que na sala de cultivo. Nessas condições o ambiente dentro do viveiro não é controlado em relação à sala de crescimento, o que resulta em uma oscilação de temperatura no interior do frasco de cultivo acarretando em um lento estabelecimento inicial dos protocormos e plântulas (DIGNART et al., 2009).

A maior mortalidade dos propágulos, observada pela maior porcentagem de propágulos não clorofilados foi verificada quando estes foram cultivados sob as condições de luminosidade LED branco fraco, LED branco forte ou de lâmpada fluorescente apresentando porcentagem de propágulos não clorofilados de 86,62; 86,62 e 94,53%, respectivamente (Figura 7).

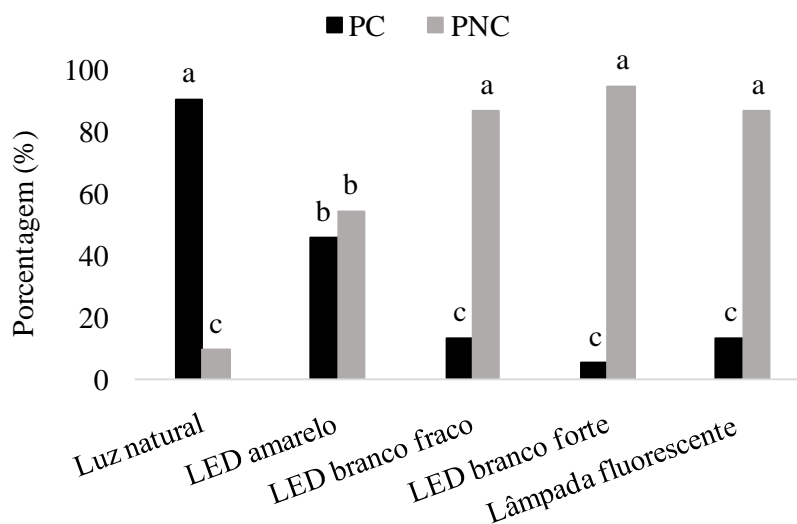


Figura 7. Porcentagem de propágulos clorofilados (PC) e propágulos não clorofilados (PNC) de *Schomburgkia crista* Lindl. em diferentes condições de luz aos 90 dias após a semeadura. Barras seguidas da mesma letra no eixo x, não diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Atualmente as salas de crescimento utilizam tanto lâmpadas fluorescentes brancas (6500K) quanto LED branco (6500K) para germinação e estabelecimento inicial de plântulas *in vitro*, no entanto, com base nos resultados obtidos neste trabalho, pode-se inferir que lâmpadas fluorescentes brancas e LEDs, tanto branco forte quanto branco fraco, podem acarretar em uma maior porcentagem de propágulos não clorofilados, tendo como hipótese a substituição dessas lâmpadas por LED amarelo, que apresentou rápido estabelecimento inicial de plântula em estágio 4 e menor porcentagem de propágulos não clorofilados (Figura 6 e 7).

Ainda assim, novos estudos devem ser realizados utilizando maior período de cultivo, a fim de visualizar a influência das fontes de luz sobre todos os estádios de cultivo *in vitro* e *ex vitro* de *S. crista*.

## 5. CONCLUSÃO

1 - A luz não foi um fator limitante para a germinação de *Schomburgkia crispera* Lindl.

2 - A utilização do LED amarelo proporcionou estabelecimento inicial em menor período de tempo e com menor mortalidade das plântulas, quando comparado com as demais fontes de luz utilizadas.

3 - A fonte de luz LED amarela (3000K) pode ser indicada como um substituto potencial para as lâmpadas fluorescentes e LEDs brancas, utilizadas em salas de crescimento em laboratórios de cultivo *in vitro*.



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRÃO, M.C.R.; JORGE, J.; PESCADOR, R.; FERREIRA, W.M.; SUZUKI, R.M. Germinação de sementes e desenvolvimento *in vitro* de plântulas de *Cattleya lodigesii* Lindl. (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v.12, n.3, p.141-147, 2014.

ARAÚJO, S. A. C.; DEMINICIS, B. B. Fotoinibição da Fotossíntese. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n.4, p.463-472, 2009.

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, n.supl, 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**. 2018. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB179>.

BELLOTO, C. A.; SOUZA, G. K.; PERIN, P. C.; SCHUQUEL, I. T. A.; SANTIN, S. M. O.; CHIAVELLI, L. U. R.; GARCIA, F. P.; KAPLUM, V.; RODRIGUES, J. H. S.; SCARIOT, D. B.; DELVECCHIO, R.; MACHADO-FERREIRA, E.; AGUIAR, R. S.; SOARES, C. A. G.; NAKAMURA, C. V.; POMINI, A. M. Crisipoic acid, a new compound from *Laelia marginata* (Orchidaceae), and biological evaluations against parasites, human cancer cell lines and Zika virus, **Natural Product Research**, v. 31, n. 1, p.1-6, 2017.

BOURGET, C.M. An introduction to light-emitting diode. **HortScience**, v. 43, n.7, p. 1944-1946. 2008.

BORGES, D. I., O, M. C.; PENONI, E. D. S.; DE PÁDUA, T. R. P.; BRAGA, F. T.; PASQUAL, M. Micropropagação de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* tzevele cv. rage) sob luz natural e artificial em diferentes concentrações do meio de cultivo. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v.7, n.1, p.9-16, 2011.

CARDOSO, J.C. Publicação em cultivo *in vitro* de plantas: qualidade para o avanço científico e tecnológico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.32, n. 4, p.383-384, 2014.

CARNEIRO, M.F.; CARNEIRO, R.I.F.; OLIVEIRA, S.A.; LEITE JÚNIOR, C.B.; PACHECO, R.A.; SOUZA, M.M.; RAMOS, T.V. Bromélias e orquídeas na região dos Cerrados – Dados preliminares. In: Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais, 13., 2001. São Paulo. **Anais...Sociedade Brasileira de Floricultura e Plantas Ornamentais**. p. 13, 2001.

CHANDRA, S.; BANDOPADHYAY, R.; KUMAR, V.; CHANDRA, R. Acclimatization of tissue cultured plantlets: from laboratory to land. **Biotechnology Letters**. v. 32, n. 9, p.1199-1205, 2010.

CID, L.P.B.; TEIXEIRA, J.B. Explante, meio nutritivo, luz e temperatura. In: CID, L.P.B. (Ed.). *Cultivo in vitro* de plantas. **Embrapa Informação Tecnológica**, Brasília, 2010. p.15-43.

CITES - CONVENTION ON INTERNATIONAL TRADE IN ENDANGERED SPECIES OF WILD FAUNA AND FLORA. **Apêndice II**. 2017. Disponível em: <[http://checklist.cites.org/#/en/search/output\\_layout=alphabetical&level\\_of\\_listing=0&show\\_synonyms=1&show\\_author=1&show\\_english=1&show\\_spanish=1&show\\_french=1&scientific\\_name=&page=1&per\\_page=20](http://checklist.cites.org/#/en/search/output_layout=alphabetical&level_of_listing=0&show_synonyms=1&show_author=1&show_english=1&show_spanish=1&show_french=1&scientific_name=&page=1&per_page=20)>. Acesso em: 20 junho. 2018.

COSTA, F. H. S.; PASQUAL, M.; ROCHA, H. S.; PEREIRA, J. E. S.; CASTRO, E. M.; MIYATA, L. Y. Crescimento e anatomia foliar de bananeiras submetidas a diferentes condições de cultivo *in vitro*. **Bragantia**, v. 68, n. 2, p. 303-311, 2009.

DIGNART, S. L.; CASTRO, E. M.; PASQUAL, M.; FERRONATO, A.; BRAGA, F. T.; PAIVA, R. Luz natural e concentrações de sacarose no cultivo *in vitro* de *cattleya walkeriana*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n.3, p. 780-787, 2009.

DRESSLER, R. L. How many orchid species?. **Selbyana**, v.26, n. 1/2, p.155-158, 2005.

FARIA, R. T.; ASSIS, A. M.; CARVALHO, J. F. R. P. Cultivo de orquídeas. Londrina: Mecenias, 2010. 208 p.

FARIA, R.T.; ASSIS, A. M.; UNEMOTO, L.K.; CARVALHO, J.F.R.P. Produção de orquídeas em laboratório. Londrina: Mecenias, 2012.124p.

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, 2008. p. 67-68.

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.

KÄMPF, A.N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. 2.ed. Guaíba: Agrolivros, 2005. 254p.

KERBAUY, G. B. Micropropagação comercial de orquídeas: conquistas, desafios e perspectivas. In: GERALD, L. T. S. **Biofábrica de plantas: produção industrial de plantas in vitro**. São Paulo: Antiqua. 2011. 383p.

KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F.J. Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata* cv. 'Grande Naine'). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Seibersdorf v.55, n. 2, p.141- 145, 1999.

LAVANYA, M.; VENKATESHWARLU, B.; DEVI, B.P. Acclimatization of neem microshoots adaptable to semi-sterile conditions. **Indian Journal of Biotechnology**, v.8, p.218-222, 2009.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. p.151.

MARTSYNOVSKA, O. Global Floriculture Industry Value Chain. Position of the Ukrainian Firms in the Floriculture Business. Lund University, 2011.

MENDONÇA, R. C.; FELFILI, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA JÚNIOR, M. C.; REZENDE, A. V.; FILGUEIRAS, T. S.; NOGUEIRA, P. E.; FAGG, C. W. Flora vascular do Bioma Cerrado: checklist com 12.356 espécies. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: ecologia e flora**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p. 422-442.

MENEZES, L. C. *Cattleyalabiata Lindley*. Orquídeas Brasileiras. Rio de Janeiro: **Expressão e Cultura**. p. 112, 1987.

MENEZES, L.C. *Laeliapurpurata*. Rio de Janeiro: **Expressão e Cultura**. p. 143, 1985.

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**. Campo Grande: Alvorada. 2015. 141 p.

PÉREZ, L. M. **estúdio de la influencia de diferentes longitudes de onda de luz led en la germinación de una orquídea *Ensysia sp.*** 2016. 49 páginas. Trabajo de conclusión de curso de graduacion en ciências biológicas – Ecología y Biodiversidad – Universidad Federal de Integracion Latinoamericana, Foz do Iguaçu, 2016.

REZENDE, R.K.S.; PAIVA, L.V.; PAIVA, R.; CHALFUN JÚNIOR, A.; TORGA, P.P.; CASTRO, E.M. Organogênese em capítulos florais e avaliação de características anatômicas da folha de *Gerbera jamesonni* Adlam. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n. 3, p. 821-827, 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.

SILVA JÚNIOR. J.M.; CASTRO, E.M.C.; RODRIGUESI, M.; PASQUAL, M.; BERTOLUCCI, S.K.V. Variações anatômicas de *Laelia purpurata* var. cárnea cultivada *in vitro* sob diferentes intensidades e qualidade spectral de luz. **Ciência Rural**, v.42, n. 3, p.480-486. 2012.

SINGH, D.; BASU, C.; MEINHARDT-WOLLWEBER, M.; ROTH, B. LEDs for energy efficient greenhouse lighting. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.49, p.139-147, 2015.

SOARES, J.S.; ROSA, Y.B.C.J.; TATARA, M.B.; SORGATO, J.C.; LEMES, C.S.R. Identificação da viabilidade de sementes de orquídeas pelo teste de tetrazólio. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n. 5 p. 2275-2284, 2014.

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, Unidade Universitária de Dourados, 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* Fitzgérald. Enciclopédia Biosfera, v.10, p.72-79, 2014.

SORGATO, J.C. **Protocolo de germinação em meios assimbióticos para *Dendrobium nobile* lindl. e *Dendrobium phalaenopsis* Fitzg.** 2016. 72f. Tese de Doutorado. Universidade Federal da Grande Dourados.

SORGATO, J.C.; ROSA, Y.B.C.J.; SOARES, J.S.; LEMES, C.S.R.; SOUSA, G.G.D. Light in intermediate acclimatization of *in vitro* germinated seedlings of *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree. **Ciência Rural**, v.45, n. 2, p.231-237, 2015.

STOUTAMIRE, W. P. Seeds and seedling of native orchids. **Michigan Botanist**, v.3, n. 1, p.104-19, 1964.

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.; MOREIRA, V. C.; NACABASHI, M.; FERREIRA, W. M. Estudo da germinação e crescimento *in vitro* de *Hadrolaelia tenebrosa* (Rolfe) Chiron & V. P. Castro (Orchidaceae), uma espécie da flora brasileira ameaçada de extinção. **Hoehnea**, v. 36, n. 4, p. 657-666, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.M.; MURPHY, A. Fisiologia Vegetal. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017, 918p.

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.

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.