

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS  
BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

GABRIELLA ALVES DE CORDOVA

**EFEITO DE TRÊS CLASSES DE REGULARES DE CRESCIMENTO,  
CITOCININA, GIBERELINA E AUXINA NA PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE  
*Dendrobium phalaenopsis* 'deang suree' - ORQUIDACEAE**

**EFFECT OF THREE GROWTH REGULARS CLASSES, CYTOKININ,  
GIBERELIN AND AUXIN IN THE *IN VITRO* PROPAGATION OF *Dendrobium*  
*phalaenopsis* 'deang suree' - ORQUIDACEAE**

DOURADOS/MS

2018

GABRIELLA ALVES DE CORDOVA

**EFEITO DE TRÊS CLASSES DE REGULARES DE CRESCIMENTO,  
CITOCININA, GIBERELINA E AUXINA NA PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE  
*Dendrobium phalaenopsis* 'deang suree' – ORQUIDACEAE**

**EFFECT OF THREE GROWTH REGULARS CLASSES, CYTOKININ,  
GIBERELIN AND AUXIN IN THE *IN VITRO* PROPAGATION OF *Dendrobium*  
*phalaenopsis* 'deang suree' - ORQUIDACEAE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
como pré-requisito ao título de Bacharel em  
Bacharelado em Biotecnologia, da Faculdade  
de Ciências Biológicas e Ambientais na  
Universidade Federal da Grande Dourados.

Orientador (a): Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cláudia Roberta  
Damiani

DOURADOS/MS

2018

GABRIELLA ALVES DE CORDOVA

**EFEITO DE TRÊS CLASSES DE REGULARES DE CRESCIMENTO,  
CITOCININA, GIBERELINA E AUXINA NA PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE  
*Dendrobium phalaenopsis* 'deang suree' – ORQUIDACEAE**

**EFFECT OF THREE GROWTH REGULARS CLASSES, CYTOKININ,  
GIBERELIN AND AUXIN IN THE *IN VITRO* PROPAGATION OF *Dendrobium*  
*phalaenopsis* 'deang suree' - ORQUIDACEAE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Bacharelado em  
Biotecnologia – Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais – Universidade Federal  
da Grande Dourados, sob a orientação da Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cláudia Roberta Damiani.

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cláudia Roberta Damiani (Presidente)

---

Profa. Dra. Lorena Pastorini Donini

---

Msc. Ademir Goelzer

Dourados/MS, dezembro 2018

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

C796e Cordova, Gabriella Alves De

EFEITO DE TRÊS CLASSES DE REGULADORES DE CRESCIMENTO:  
CITOCININA, GIBERELINA E AUXINA NA PROPAGAÇÃO IN VITRO DE  
Dendrobium phalaenopsis 'deang suree' - ORQUIDACEAE. / Gabriella Alves  
De Cordova -- Dourados: UFGD, 2018.

11f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Pro<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cláudia Roberta Damiani

TCC (Graduação em Biotecnologia)-Universidade Federal da Grande  
Dourados

Inclui bibliografia

1. Auxina. 2. Citocinina. 3. Giberelina. 4. Denfal. I. 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.**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, sou grata por essa conquista na minha vida, que pra mim significa só o começo. Sou grata pelos anjos da guarda que estiveram comigo em todos os momentos e seria impossível sem ajuda deles.

Minha grande incentivadora e quem sonhou comigo desde sempre, que sorriu, chorou, viveu cada momento junto comigo, mesmo longe. Com diárias conversas de positividade, força, foco, amor e gratidão. Minha mãe, meu primeiro anjo da guarda na Terra, vivendo intensamente dessa experiência comigo. As orações dela não falhariam, e eu conheci mais dois anjos que eu sou imensamente grata, que deram abrigo, colo, conselho, orientação, e fazem parte desse momento, levarei no coração para o resto da vida com muita gratidão, Yara M. Rigotti e Cláudia Roberta Damiani.

Quero agradecer aos amigos que fiz na faculdade, o “bonde”. É muito bom conhecer pessoas totalmente diferentes, porém, com mesmos objetivos, com mesmas paixões, em algum instante da nossa vida, nos conectamos e a Biotecnologia nos uniu. Isso pra mim soa, como o amor pela vida nos uniu. E então não seria diferente, nós todos criamos uma família, onde nunca permitimos ninguém desistir, todos dando força um aos outros. Obrigada !

## RESUMO

Devido à importância e popularidade da orquídea *Dendrobium phalaenopsis* para a orquidicultura brasileira e mundial, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a capacidade de crescimento durante a propagação *in vitro* do híbrido desta espécie ‘deang suree’. O cultivo foi realizado em meio MS com diferentes reguladores de crescimento, isolados e em combinação, sendo estes, 6-benzilaminopurina (BAP), ácido giberélico ( $GA_3$ ) e ácido indolbutírico (AIB). As concentrações foram previamente definidas, respectivamente 2,5; 0,1 e 0,1 mg L<sup>-1</sup>, totalizando 8 tratamentos. Aos 60 dias de cultivo foram avaliados: número e comprimento das brotações, folhas e raízes e as massas fresca e seca da parte aérea e do sistema radicular. Observou-se um efeito significativo para o número de folhas, número de raízes, comprimento das raízes e para a massa fresca da parte aérea. Para as demais variáveis, número de brotações, comprimento das brotações, comprimento das folhas, massa fresca do sistema radicular e massa seca da parte aérea e do sistema radicular não foram observados efeitos significativos. O maior número de folhas por brotação (4,0) foi observado nos explantes cultivados em meio contendo AIB, sendo também observado neste tratamento, o maior valor de massa fresca (2.740 mg). Explantes cultivados em meio livre de regulador apresentaram maior número de raízes (7,6), sendo o menor número observado em explantes tratados com a combinação de BAP+AIB+ $GA_3$ . Explantes cultivados em AIB ou  $GA_3$  apresentaram raízes mais longas, aproximadamente 1,0 cm de comprimento, enquanto que o cultivo em meio contendo BAP+ $GA_3$  inibiu o alongamento das mesmas.

**Palavras chave:** Auxina; Citocinina; Giberelina; Denfal

## ABSTRACT

Due to the importance and popularity of the orchid *Dendrobium phalaenopsis* for Brazilian orchid and world orchids, this work was carried out to evaluate the growth capacity during the *in vitro* propagation of 'deang suree' hybrid of this species. The culture was carried out in MS medium with different growth regulators, isolated and in combination, 6-benzylaminopurine (BAP), gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) and indole butyric acid (IBA). The concentrations were previously defined, respectively 2.5; 0.1 and 0.1 mg L<sup>-1</sup> and added to the MS culture medium, totaling 8 treatments. At 60 days of cultivation were evaluated: number and length of shoots, leaves and roots and fresh and dry masses of shoot and root system. A significant effect was observed for leaf number, number of roots, root length and fresh shoot mass. For the other variables, number of shoots, shoot length, leaf length, fresh mass of the root system and dry mass of shoot and root system, no significant effects were observed. The highest number of leaves per bud (4.0) was observed in the explants cultivated in medium containing IBA. The highest fresh mass value (2,740 mg) was also observed in this treatment. Explants cultivated in regulator-free medium showed a higher number of roots (7.6), the lowest number observed in explants treated with the combination of BAP + IBA + GA<sub>3</sub>. Explants cultivated in IBA or GA<sub>3</sub> showed longer roots, approximately 1.0 cm in length, while culture in medium containing BAP + GA<sub>3</sub> inhibited the elongation of the same.

**Key words:** BAP; GA<sub>3</sub>; IBA

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....
2. MATERIAL E MÉTODOS .....
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....
4. CONCLUSÃO.....
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....

## 1. INTRODUÇÃO

*Dendrobium phalaenopsis* é uma espécie de orquídea nativa da ilha de Larat, na província de Maluku (Indonésia), onde está sob proteção do regulamento governamental desde 1999 devido sua escassez na natureza (IVAKDALAM e PUGESEHAN, 2016). Entre as plantas monocotiledôneas, a família Orchidaceae representa a maior em número de espécies, com cerca de 25.000 espécies e 850 gêneros, sem contar a quantidade de híbridos que são criados, sendo considerada a família de plantas com maior valor comercial, superior a qualquer cultivo ornamental (ROBERTS e DIXON, 2008). Segundo Cozzolino e Widmer (2005) cerca de um terço das espécies de orquídeas são polinizadas por engano por insetos, sendo este fenômeno uma das chaves para explicar a grande diversidade floral e de espécies e do sucesso evolutivo das orquídeas.

Devido às características ornamentais, diversidade nas formas, beleza e exuberância das flores, as orquídeas apresentam relevante importância econômica (FERREIRA e SUZUKI, 2008). De acordo com Chugh et al. (2009) o comércio internacional de orquídeas representa cerca de 8% do mercado mundial de plantas ornamentais. No Brasil, o segmento das orquídeas tem apresentado desempenhos produtivos e comerciais surpreendentes, resultado do trabalho dos produtores que a cada ano introdução introduzem mais novidades em espécies e cultivares (SEBRAE, 2015).

Além do comércio ornamental, muitas espécies são utilizadas pela população como alimento e para fins medicinais (PELÚZIO e SOARES, 2004). Dentre alguns dos gêneros utilizados para estes fins, podemos destacar a baunilha (*Vanilla planifolia*) comercializada como essência aromatizante e condimentar, sendo a essência obtida através do processamento do fruto (DIVAKARAN et al., 2006), os bulbos de *Dendrobium spp.* são utilizados como alimentos e para fins medicinais, pois são ricos em ésteres e ácidos aromáticos simples que propiciam diversas atividades, como antimutagênicas, antitumorais e antioxidantes (FAN et al., 2001), os tubérculos de *Orchis mascula* utilizados na Turquia para fabricação de sorvetes (ROBERTS e DIXON, 2008), os tubérculos de *Satyrium nepalense* consumidos como tônico energético na Ásia (MAHENDRAN e BAI, 2009).

De grande importância para o ambiente, as espécies da família Orchidaceae são de extrema importância para a manutenção da biodiversidade, mostrando o estado de conservação das florestas, uma vez que são sensíveis às intervenções antrópicas em

áreas de mata primária (MARRARA et al., 2007), atuando como bioindicadores para avaliação e manutenção de ecossistemas (PELÚZIO e SOARES, 2004)

A espécie *Dendrobium phalaenopsis* representa um dos alvos de coleta predatória e por este motivo encontra-se em escassez em seu habitat natural colocando em risco a sua existência (MONDAL et al., 2016). De acordo com os mesmos autores a espécie apresenta reduzida germinação das sementes, devido a fatores morfológicos, como a ausência de endosperma e a presença de embriões pouco diferenciados, tornando impossível a produção de grandes quantidades de mudas. Neste sentido, nas duas últimas décadas, as técnicas de cultivo *in vitro* têm sido utilizadas para a propagação de orquídeas, para o estudo de aspectos fisiológicos relacionados ao crescimento e desenvolvimento e como método de conservação *ex situ* para redução do risco de extinção (FERREIRA e SUZUKI, 2008).

Com relação à propagação *in vitro* das orquídeas, inúmeras formulações de meios de cultura são utilizadas. Entre as formulações mais utilizadas, tanto para a germinação *in vitro*, quanto para a multiplicação e enraizamento *in vitro* estão o meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), meio KC (KNUDSON, 1946) e meio VC (VACIN e WENT, 1949).

A composição do meio de cultura é fundamental para a germinação da semente e a obtenção de plântulas com qualidade. Neste sentido, o meio de cultura MS destaca-se como o mais utilizado em cultura de tecidos vegetais para maioria das espécies (BERTOZZO e MACHADO, 2010).

Os hormônios vegetais, também conhecidos como reguladores de crescimento, por sua vez, afetam diretamente o metabolismo, crescimento e morfogênese das plantas, garantindo maior eficiência da técnica, com manipulação isolada ou combinada dos reguladores de crescimento (MORAIS et al., 2012). As giberelinas como o ácido giberélico ( $GA_3$ ) são consideradas promotores de crescimento, as quais atuam na germinação, na síntese proteica, na superação de dormência, no controle de hidrólise do amido induzindo a síntese de enzimas como a  $\alpha$ -amilase, liberando energia para o desenvolvimento embrionário (TAIZ e ZEIGER, 2009). Das citocininas, um dos tipos mais comumente utilizados desta classe hormonal é o ácido 6-benzilaminopurina (BAP), o qual atua diretamente no crescimento e desenvolvimento dos explantes, estando relacionado com a divisão celular e o crescimento do meristema, à proliferação de gemas axilares, promovendo o desenvolvimento da parte aérea (BIELACH et al., 2012). Das auxinas sintéticas, o ácido indolbutírico (AIB) é um dos reguladores mais

eficientes quando a finalidade é acelerar o processo de emissão das raízes adventícias (GALVÃO et al., 2016). As auxinas, assim como as giberelinas e citocininas, devem ser usadas cuidadosamente, pois um dos fatores que mais influenciam o processo de desenvolvimento *in vitro* são a concentração e tempo de exposição aos reguladores, podendo resultar em efeitos benéficos ou tóxicos se utilizados em quantidades elevadas (BOTELHO et al., 2005; INOCENTE et al., 2018).

Considerando a importância e popularidade da orquídea *Dendrobium phalaenopsis* para a orquidicultura brasileira e mundial e ao mesmo tempo, a carência de estudos sobre o híbrido desta espécie ‘Deang Suree’, a ampliação do conhecimento referente ao crescimento *in vitro* e a adequação do meio de cultivo para uso futuro na propagação da espécie em larga escala, bem como, a produção de mudas homogêneas e de qualidade são cada vez mais necessários. Assim, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a propagação *in vitro* de *D. phalaenopsis* em meio de cultivo MS suplementado com diferentes classes hormonais, auxina, citocinina e giberelina, isoladas ou em combinação.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados – MS.

Foram utilizadas como material de estudo, microplantas de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree (Orquidaceae) com aproximadamente 180 dias e obtidas de semeadura *in vitro* no Laboratório de Cultivo *in vitro* da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA/UFGD).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. O fator estudado foi diferentes reguladores de crescimento, isolados e em combinação, sendo estes, 6-benzilaminopurina (BAP), ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) e ácido indolbutírico (AIB), em concentrações previamente definidas, respectivamente 2,5; 0,1 e 0,1 mg L<sup>-1</sup>, adicionadas ao meio de cultivo MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962). Os tratamentos consistiram de: controle (sem regulador), BAP, AIB, GA<sub>3</sub>, BAP+AIB, BAP+GA<sub>3</sub>, AIB+GA<sub>3</sub> e BAP+ AIB+GA<sub>3</sub>, totalizando 8 tratamentos. Cada tratamento foi composto por quatro repetições e cada repetição composta por um frasco de cultivo contendo 5 explantes cada.

O meio de cultivo foi acrescido de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 0,1 g L<sup>-1</sup> de mio-inositol, 2 g L<sup>-1</sup> de Phytigel® e regulador de crescimento conforme tratamento, sendo o pH ajustado para 5,8. Após a homogeneização, os meios de cultivo foram fracionados em frascos de vidro transparente com capacidade de 260 mL, sendo distribuídos 50 mL de meio em cada frasco. Logo após este procedimento realizou-se a esterilização em autoclave a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos.

Para a realização do experimento foram utilizados explantes nodais contendo duas gemas laterais com a presença de folhas, com aproximadamente 1,0 cm de comprimento. Após a preparação e inoculação dos explantes nos respectivos tratamentos, os frascos de cultivo foram mantidos em sala de crescimento com temperatura média de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 16 horas, com intensidade luminosa de 18,9 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> obtida por meio de duas lâmpadas brancas fluorescentes de 40 W cada.

Aos 60 dias de cultivo foram avaliados: o número médio de brotações por explante, o comprimento médio das brotações (cm), o número médio de folhas por brotação, o comprimento médio das folhas (cm), o número médio de raízes por brotação, o comprimento médio das raízes (cm), a massa fresca e seca total (mg) da parte aérea e do sistema radicular. Para obtenção da massa seca, o material vegetal foi acondicionado em sacos de papel, e, desidratados em estufa de secagem com circulação e renovação de ar forçado, com temperatura de 65 °C por um período de 72 horas.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro utilizado o programa WINSTAT (MACHADO & CONCEIÇÃO, 1999). Os dados obtidos em número foram transformados em raiz quadrada de (x+0,5).

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

De acordo com a análise de variância houve um efeito significativo entre os reguladores de crescimento 6-benzilaminopurina (BAP), ácido indolbutírico (AIB), ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) e a combinação dos mesmos, para o número médio de folhas, número médio de raízes, comprimento médio das raízes e para a massa fresca da parte aérea (Tabela 1). Para as demais variáveis avaliadas, número médio de brotações, comprimento médio das brotações, comprimento médio das folhas, massa fresca do sistema radicular e massa seca da parte aérea e do sistema radicular não foram observados efeitos significativos.

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância: Número Médio de Brotações (NB); Comprimento Médio das Brotações (CB); Número Médio de Folhas por Brotação (NF); Comprimento Médio das Folhas (CF); Número Médio de Raízes por Brotação (NR); Comprimento Médio das Raízes (CR); Massa Fresca da Parte Aérea (MFPA); Massa Fresca do Sistema Radicular (MFSR); Massa Seca da Parte Aérea (MSPA) e Massa Seca do Sistema Radicular (MSSR). Dourados-MS, UFGD, 2018.

Fonte de variação	GL	Quadrados médios									
		NB	CB (cm)	NF	CF (cm)	NR	CR (cm)	MFPA (mg)	MFSR (mg)	MSPA (mg)	MSSR (mg)
Regulador	7	0,062 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	0,053 <sup>**</sup>	0,07 <sup>ns</sup>	2,217 <sup>**</sup>	0,321 <sup>**</sup>	1,747 <sup>*</sup>	0,038 <sup>ns</sup>	0,057 <sup>ns</sup>	0,003 <sup>ns</sup>
Resíduo	21	0,029	0,016	0,012	0,059	0,409	0,050	0,597	0,043	0,049	0,003
CV (%)		10,2	31,9	5,75	30,6	35,8	23,9	45,1	88,1	88,8	101,6
Média geral		2,3	0,4	3,3	0,8	3,6	0,9	1.700	240	250	60

\*\* , \* - Significativos a 1% e 5% de probabilidade de erro, respectivamente, e **ns** (não significativo) pelo teste F. GL – Graus de liberdade; CV – Coeficiente de variação.

Quanto ao desenvolvimento das brotações, de modo geral, os reguladores testados não influenciaram no número e no comprimento das mesmas, pois não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos testados, sendo verificada uma média geral de 2,3 brotos por explante e uma média de 0,4 cm de comprimento das brotações (Tabela 2). Ainda com relação ao desenvolvimento da parte aérea, os resultados obtidos demonstraram que o comprimento das folhas também não foi influenciado pelos tratamentos, no entanto, o número de folhas foi superior (3,99) em explantes cultivados em meio contendo AIB, sendo estatisticamente igual aos explantes cultivados em meio contendo BAP, diferindo somente dos explantes cultivados em meio contendo BAP+GA<sub>3</sub> e AIB+GA<sub>3</sub>, os quais apresentaram menor número de folhas, aproximadamente 2,8. As citocininas, como exemplo o BAP, de modo geral são responsáveis por estimular a divisão celular e em altas concentrações induzir a formação de brotos adventícios e inibir a formação de raízes, enquanto as auxinas, como exemplo o AIB, de modo geral são utilizadas *in vitro* para induzir o desenvolvimento de raízes adventícias, ou, o desenvolvimento de calos quando utilizadas a combinação de auxinas e citocininas (CARVALHO, 1999). Neste sentido, os resultados obtidos neste experimento demonstraram que explantes cultivados em meio contendo BAP não diferiram estatisticamente dos explantes cultivados em meio contendo AIB para o número e comprimento das brotações, bem como para o número e comprimento de folhas. Em estudos conduzidos na espécie *Dendrobium lindley* por Satinder e Sarma (1997), os autores observaram que tanto a parte aérea como o sistema radicular dos

explantes se desenvolveram melhor em meio de cultura MS acrescido de 1,0 a 2,0 mg L<sup>-1</sup> de AIB. Segundo Botelho et al. (2005) a auxina tem o potencial de inibir ou de estimular o crescimento e a posterior diferenciação dos tecidos, dependendo da concentração e o tempo de exposição, havendo um nível ótimo para estas respostas fisiológicas.

Com relação ao crescimento das brotações, os resultados demonstraram que de modo geral, o uso do ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) neste experimento, não favoreceu o alongamento das mesmas, não havendo diferenças com os demais tratamentos. Sabendo-se que o ácido giberélico é um regulador vegetal que atua como estimulante de crescimento, em consequência da sua ação na divisão e expansão celular, sua aplicação dá origem a plantas mais alongadas (TAIZ e ZEIGER, 2009). No entanto, de acordo com os mesmos autores, seus efeitos variam de acordo com cada espécie e em alguns casos, o uso de GA<sub>3</sub> pode até inibir o desenvolvimento, não apresentando efeito algum como o observado neste experimento. Por sua vez, Rodrigues et al. (2007) trabalhando com a orquídea *Cattleya loddigesii* verificaram resultados superiores quanto ao comprimento médio da parte aérea com a utilização de 10,0 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>. Da mesma forma Araújo et al. (2005) verificaram melhores respostas para altura de plântulas de *Laeliocattleya x Cattleya walkeriana* cultivadas em meio WPM com 10 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>.

Com relação ao desenvolvimento radicular, explantes cultivados em meio livre de regulador apresentaram maior número de raízes (7,62), no entanto, o maior comprimento de raízes foi observado em explantes cultivados em meio contendo a combinação dos três reguladores BAP+AIB+GA<sub>3</sub> (1,05) (Tabela 2). Reconhecidamente, as auxinas quando utilizadas em baixas concentrações, estimulam a iniciação e o desenvolvimento das raízes. No entanto, de acordo com Radmann et al. (2002), o efeito inverso, ou seja, a inibição, pode ocorrer quando em altas concentrações. De acordo com o mesmo autor, tal efeito ocorre porque as auxinas estimulam a produção de etileno, um inibidor. Os resultados observados neste experimento demonstraram que apesar de não haver diferenças significativas entre o uso de AIB e a ausência de regulador, claramente o uso de AIB não se faz necessário para o enraizamento de *Dendrobium phalaenopsis* 'deang suree'.

**Tabela 2.** Efeito dos tratamentos com BAP, AIB e GA<sub>3</sub> aos 60 dias de cultivo *in vitro* de *Dendrobium phalaenopsis* ‘deang suree’. NB - número médio de brotações; CB – Comprimento médio das brotações (cm); NF - número médio de folhas; CF- comprimento médio das folhas (cm); NR- número médio de raízes; CR – Comprimento médio das raízes (cm); MFPA - massa fresca da parte aérea; MFSR- massa fresca do sistema radicular; MSPA- massa seca da parte aérea; MSSR - massa seca do sistema radicular.

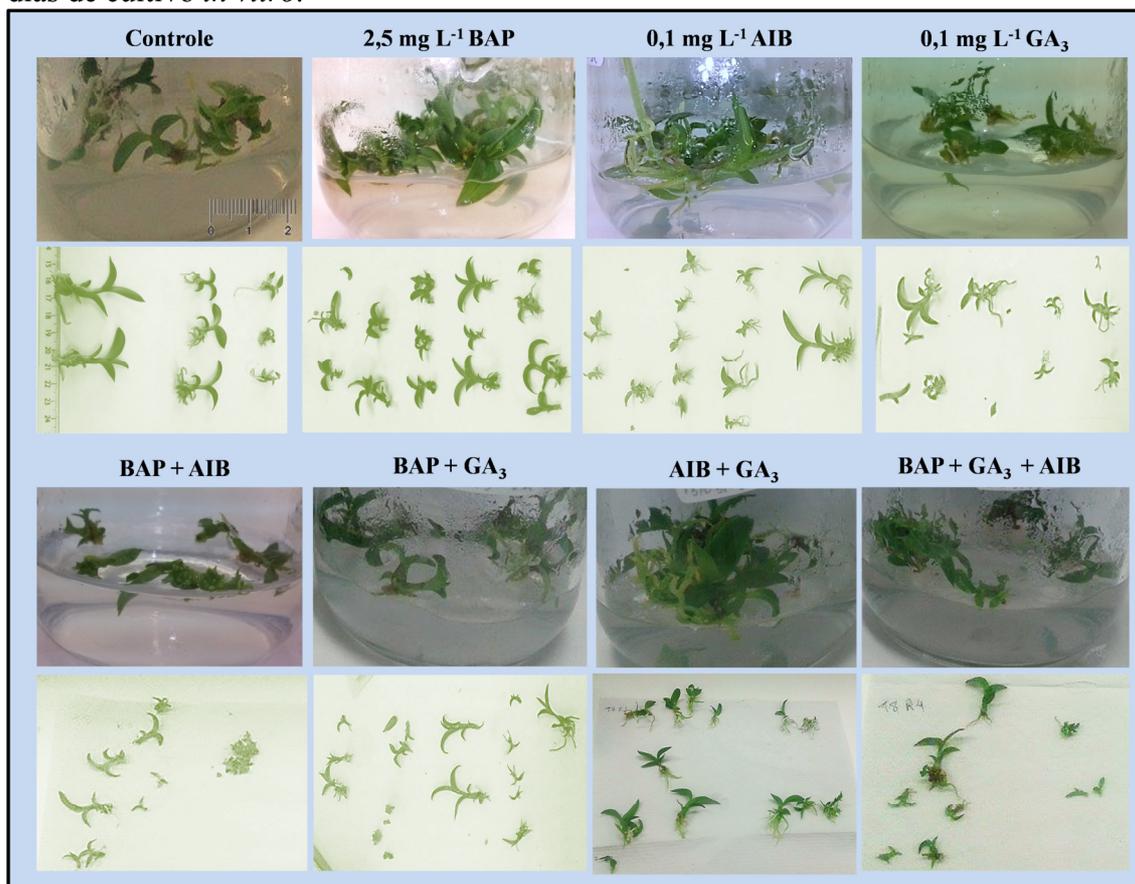
Tratamentos (mg L <sup>-1</sup> )	NB	CB (cm)	NF	CF (cm)	NR	CR (cm)	MFPA (mg)	MFSR (mg)	MSPA (mg)	MSSR (mg)
<b>CONTROLE</b>	2,6 a*	0,42a	3,43ab	0,78a	7,62a	0,86bc	1.800ab	410a	340a	80a
<b>BAP (2,5)</b>	2,85a	0,38a	3,85ab	0,86a	4,10ab	0,68bc	2.470ab	260a	330a	30a
<b>AIB (0,1)</b>	2,90a	0,52a	3,99a	0,92a	5,72ab	1,04ab	2.740a	240a	470a	90a
<b>GA<sub>3</sub> (0,1)</b>	2,15a	0,38a	3,03ab	0,84a	5,90ab	1,06ab	1.850ab	170a	150a	90a
<b>BAP + AIB</b>	2,15a	0,3a	3,05ab	0,58a	1,57b	0,73bc	1.590ab	110a	190a	30a
<b>BAP + GA<sub>3</sub></b>	1,90a	0,41a	2,82b	0,7a	1,22b	0,03c	1.320ab	130a	150a	30a
<b>AIB + GA<sub>3</sub></b>	1,95a	0,46a	2,85b	0,98a	1,32b	1,43ab	790b	240a	180a	60a
<b>BAP + AIB + GA<sub>3</sub></b>	1,85a	0,38a	2,97ab	0,7a	1,05b	1,84a	1.100ab	290a	160a	40a

\*Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Quanto à massa fresca e seca, somente foram observadas diferenças estatísticas significativas para a massa fresca da parte aérea, onde semelhante ao número de folhas, explantes cultivados em meio contendo AIB apresentaram maior teor de massa fresca, 2.740 mg em comparação à 790 mg nos explantes cultivados em meio contendo AIB+GA<sub>3</sub> (Tabela 2). De acordo com Sorgato et al. (2015) o uso de GA<sub>3</sub> na propagação de *Dendrobium phalaenopsis* é recomendável na fase de preparo para a aclimatização das plantas. Os autores recomendam a imersão das plantas por um período não superior a 24 horas em solução nutritiva com adição de GA<sub>3</sub> como forma de propiciar aumento da massa fresca, comprimento e número de raízes.

Quanto ao aspecto geral das plantas micropropagadas aos 60 dias de cultivo *in vitro* (Figura1) é possível observar que explantes cultivados em meio MS contendo BAP e meio contendo AIB+GA<sub>3</sub> apresentaram lâminas foliares mais largas e brotos mais desenvolvidos. Por outro lado, em explantes cultivados nos demais tratamentos as lâminas foliares foram menores e as brotações menos desenvolvidas. Explantes cultivados em meio contendo somente AIB, as raízes formadas foram mais longas e mais espessas.

**Figura 1.** Aspecto das brotações de *Dendrobium phalaenopsis* ‘deang suree’ aos 60 dias de cultivo *in vitro*.



#### 4. CONCLUSÃO

Explantes cultivados em meio contendo somente AIB apresentaram maior valor de massa fresca e maior número de folhas por brotações. O cultivo dos explantes em meio livre de reguladores de crescimento promoveu o desenvolvimento de maior número de raízes. Com relação ao comprimento das raízes, explantes cultivados em meios de cultivo contendo AIB ou GA<sub>3</sub> apresentaram raízes mais longas, sendo observado efeito oposto, ou seja, a redução do comprimento das raízes, em explantes cultivados meio contendo a combinação de BAP+GA<sub>3</sub>. Recomenda-se para o desenvolvimento da parte aérea, e número de folhas de *D.phanaenopsis* no cultivo *in viro*, utilizar o regulador AIB. Enquanto que o desenvolvimento do sistema radicular não se faz necessário o uso de reguladores.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, A.G.; PASQUAL, M.; RODRIGUES, F.A.; RODRIGUES, V.A.; FERREIRA, A.L. Meios de cultura e GA<sub>3</sub> no cultivo *in vitro* de um híbrido de orquídea. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 2, p. 612. 2005.

BERTOZZO, F.; MACHADO, I. S.; Meios de cultura no desenvolvimento de ápices caulinares de mamoneira (*Ricinus communis* L.) *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.34, n.6, 2010.

BIELACH, A.; DUCLERCQ, J.; MARHAVÝ, P.; BENKOVÁ, E. Genetic approach towards the identification of auxincytokinin crosstalk components involved in root development. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v.367, n.1595, p.1469-78, 2012.

BOTELHO, R. V.; MAIA, A. J.; PIRES, E. J. P.; TERRA, M. M.; SCHUCK, E. Efeitos de reguladores vegetais na propagação vegetativa do porta-enxerto de Videira “43-43” (*Vitis vinifera* x *vitis rotundifolia*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.27 n.1, p.6-8, 2005.

CARVALHO, J.M.F.C. de. **Técnicas de micropropagação**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 1999. 39p. (Documentos, 64).

CHEN, Y.; LIU, Y.; JIANG, J.; ZHANG, Y.; YIN, B.; Dendronone, a new phenanthrenequinone from *Dendrobium cariniferum*. **Food Chemistry**, v.111, n.1, p.11–12, 2008.

CHUGH, S.; GUHA, S.; USHA, R. Micropropagation of orchid: a review on the potential of different explants. **Scientia Horticulture**, v.122, n.4, p.507-520, 2009.

COZZOLINO, S.; WIDMER, A. Orchids diversity: an evolutionary consequence of deception? **Trends in Ecology and Evolution**, v.20, n.9, p.487–494, 2005.

DIVAKARAN, M.; BABU, K.N.; PETER, K.V. Conservation of *Vanilla* species *in vitro*. **Scientia Horticulture**, v.110, n.2, p.175-180, 2006.

FAN, C.; WANG, W.; WANG, Y.; QIN, G.; ZHAO, W.; Chemical constituents from *Dendrobium densiflorum*. **Phytochemistry**, v.57, p.1255–1258, 2001.

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 MIB, Baseia IG & Lichston JE (Org.) **Atualidades, desafios e perspectiva da botânica no Brasil**. Natal, Imagem Gráfica, p.67-68, 2008.

GALVÃO, E.C.; RAMOS, J.D.; PIO, L.A.S.; LAREDO, R.R.; SILVA, F.O.R.; MIRANDA, J.M.S. Substratos e ácido indolbutírico na produção de mudas de pitaia vermelha de polpa branca. **Revista Ceres**, n.63, v.6, p.860-867, 2016.

INOCENTE, V.H.H.; NIENOW, A.A.; TRE, L. Time of treatment with IBA in Olive cultivars rooting. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.40, n.1, p.1-6, 2018.

IVAKDALAM, L.M.; PUGESEHAN, D.J. Keragaman jenis tanaman anggrek (Orchidaceae) di cagar alam angwarmase, kabupaten maluku tenggara barat. **Jurnal Agroforestri**, v.11, n.3, p.161–168, 2016.

KNUDSON, L. A new nutrient solution for the germination of orchid seed. **American Orchid Society Bulletin**, v. 14, p.214- 217, 1946.

MACHADO, A.A.; SILVA, J.G.C.; SILVEIRA JUNIOR, P.; CONCEIÇÃO, A.R. **Winstat - sistema de análise estatística para Windows**, 1999.

MAHENDRAN, G.; BAI, V.N. Mass propagation of *Satyrium nepalense* D. Don. A medicinal orchid via seed culture. **Scientia Horticulturae**, v.119, p.203–207, 2009.

MARRARA, M.; BRESCANSIN, R.B.; ZAMBOM, R.I.; GAGLIARDO, V.C.; MORAES, P. de; JÚNIOR, R.O.. Florística da família Orchidaceae em fragmento florestal semidecidual da fazenda Montevideo, município de Araras, SP, Brasil. **Anais do 8º Congresso de Ecologia do Brasil**, 8, Caxambu, p.1-2. 2007.

MONDAL, T.; ADITYA, S.; BANERJEE, N. Role of plant growth regulators on asymbiotic seed germination and seedling development of *Vanda coerulea* Griff. ex Lindl. an endangered orchid. **Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences**, v.6, n.3, p.36–41, 2016.

MORAIS, T.P.; LUZ, J.M.Q.; SILVA, S.M.; RESENDE, R.F.; SILVA, A.S.; Aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, n.1, p.110-121, 2012.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.; A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**, v.15, n.3, p.473-97, 1962.

PELÚZIO, L.E.; SOARES, M.N. Orquídeas: Porta aberta para a educação ambiental. **Revista Ponto de Vista**, v.1, n.1, p.55-63, 2004.

RADMANN, E.B.; FACHINELLO, J.C.; PETERS, J.A. Efeito de auxinas e condições de cultivo no enraizamento *in vitro* de porta-enxertos de macieira ‘M-9’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, p.624-628, 2002.

ROBERTS, D.L.; DIXON, K.W. Orchids. **Current Biology**, v.18, n.8, p.325-329, 2008.

RODRIGUES, J.D.; ARAUJO, A.G. de; PASQUAL, M.; FERREIRA, E.A.; ROCHA H.S.; RODRIGUES, F.A. Ácido giberélico e número de explantes na propagação *in*

*in vitro* de *Cattleya loddigesii* Lindl. **Plant Cell Culture and Micropropagation**, v.3, p.78-82, 2007.

SATINDER, K.; SARMA, C.M.; Selection of best medium for *in vitro* propagation of *Dendrobium Lindley* Steud. **Advances in plant sciences**, v.10, p.1-5, 1997.

SEBRAE. **Comercialização de flores e plantas ornamentais**. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-mercado-brasileiro-de-flores-e-plantas-ornamentais,456649f6ced44510VgnVCM1000004c00210aRCRD>>. Acesso em outubro de 2018.

SORGATO, J.C.; SOARES, J.S; ROSA, Y.B.C.J.; LEMES, C.S.R.; PEREIRA, S.T.S.; REZENDE, L.S. Imersão em solução nutritiva e ácido giberélico promovem a aclimatização intermediária de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree. **Revista Brasileira de Biociências**, v.13, n.3, p.176-180, 2015.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

VACIN, E.F.; WENT, F.W. Some pH in nutrient solutions. **Botanical Gazette**, v.110, p.605-617, 1949.