

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE *Cattleya* LINDL.
(ORCHIDACEAE) NATIVAS DO CERRADO
BRASILEIRO EM FUNÇÃO DA LUZ**

LUAN MARLON RIBEIRO

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2021**

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE *Cattleya* LINDL. (ORCHIDACEAE)
NATIVAS DO CERRADO BRASILEIRO EM FUNÇÃO DA LUZ**

LUAN MARLON RIBEIRO
Engenheiro Agrônomo

Orientador: PROF. DR. JOSÉ CARLOS SORGATO

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

Dourados
Mato Grosso do Sul
2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

R484p	<p>Ribeiro, Luan Marlon. Propagação <i>in vitro</i> de duas orquídeas do gênero <i>Cattleya</i> nativas do cerrado brasileiro em função da luz. / Luan Marlon Ribeiro. – Dourados, MS : UFGD, 2021.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. José Carlos Sorgato. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Orchidaceae. 2. Espécie nativa. 3. Horticultura ornamental. I. Título.</p>
-------	---

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.


**PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE DUAS ORQUÍDEAS DO GÊNERO *Cattleya*
NATIVAS DO CERRADO BRASILEIRO EM FUNÇÃO DA LUZ**

por

Luan Marlon Ribeiro

Tese apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
DOUTOR EM AGRONOMIA

Aprovada em: 10/03/2021



Dr. José Carlos Sorgato
Orientador – UFGD/FCA




Dra. Silvana de Paula Quintão Scalon
UFGD/FCA



Dr. Etenaldo Felipe Santiago
UEMS



Dra. Cláudia Roberta Damiani
UFGD/FCBA



Dra. Jackeline Schultz Soares
UFGD/FCA

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Deus, que me deu o dom da vida, e com ela capacidade de pensar e agir, e desta forma, produzir este documento.

Aos meus pais Rosimeire e João e minha irmã Mariana, que desde o começo me deram forças e acreditaram na minha capacidade.

À minha inestimável e amável vó Cicera (in memoriam), que foi minha fonte de inspiração e me mostrou que sempre devemos encarar as dificuldades da vida com coragem, além de sempre confiar e me apoiar.

Ao meu amigo e companheiro Daniel que sempre esteve ao meu lado, nos bons e maus momentos, dando forças para continuar a jornada.

À Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior – CAPES, pelas contribuições durante minha formação, e pela concessão da bolsa.

Ao meu orientador Dr. José Carlos Sorgato e a Técnica de laboratório Dra. Jackeline Schultz Soares, pelas orientações de forma excepcionais e pela confiança a mim depositado por todo esse tempo, além da grande amizade que me permitiram ter durante a nossa convivência.

Ao Grupo de Ensino e Pesquisa em Horticultura Ornamental – GEHORTI, pelo espaço e equipamentos fornecidos durante a condução dos experimentos.

Aos meus colegas de pesquisa Jéssica, Isabella, Geise, André, Karla, Rudimara, Muhammad, Priscila, e tantos outros que passaram pelo laboratório durante esse período de doutorado, pela convivência, aprendizado, ajuda durante as avaliações dos experimentos e das tantas risadas durante nossas horas de descontração no laboratório.

E a todos que não foram citados, mas que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	8
CAPÍTULO I – METODOLOGIA DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA IDENTIFICAÇÃO DE SEMENTES VIÁVEIS DE ORQUÍDEAS DO GÊNERO <i>Cattleya</i> NATIVAS DO CERRADO BRASILEIRO.....	12
RESUMO.....	12
INTRODUÇÃO.....	14
MATERIAL E MÉTODOS.....	15
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17/20
CONCLUSÃO.....	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
CAPÍTULO II – GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL <i>IN VITRO</i> DE ORQUÍDEAS DO GÊNERO <i>Cattleya</i> NATIVAS DO CERRADO BRASILEIRO EM FUNÇÃO DO ESPECTRO DE LUZ.....	25
RESUMO	25
INTRODUÇÃO	27
MATERIAL E MÉTODOS	28
RESULTADOS E DISCUSSÃO	31/42
CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
CAPÍTULO III – GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL <i>IN VITRO</i> DE ORQUÍDEAS DO GÊNERO <i>Cattleya</i> NATIVAS DO CERRADO BRASILEIRO EM FUNÇÃO DE FONTES DE LUZ NATURAL E ARTIFICIAL.....	51
RESUMO.....	51
INTRODUÇÃO.....	53
MATERIAL E MÉTODOS.....	55
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57/67

CONCLUSÃO.....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71

PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE *Cattleya* LINDL. (ORCHIDACEAE) NATIVAS DO CERRADO BRASILEIRO EM FUNÇÃO DA LUZ

RESUMO GERAL

O cultivo *in vitro* é uma ferramenta biotecnológica valiosa na obtenção de plantas tanto o cultivo comercial quanto para a pesquisa visando a preservação das espécies. Dentre elas destacam-se a *Cattleya nobilior* Rehb.f., e *Cattleya walkeriana* Gardner que pertencem a família Orchidaceae. Essas plantas são nativas do Brasil e estão classificadas como quase ameaçada de extinção e vulnerável, respectivamente. Dessa forma, protocolos para a técnica *in vitro* variam em função da espécie a ser produzida, tornando assim necessária a adequação do procedimento para cada uma delas. Objetivou-se com este trabalho determinar uma metodologia do teste de tetrazólio, germinação e o desenvolvimento inicial *in vitro* de propágulos de duas orquídeas do gênero *Cattleya* nativas do Cerrado brasileiro. Foram realizados três experimentos independentes no Laboratório de Cultivo *in vitro* da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados-UFGD. Para o primeiro experimento, objetivou-se identificar metodologia adequada para a identificação da viabilidade de sementes de *Cattleya* pelo teste de tetrazólio, por meio de três pré-condicionamentos: sem embebição (controle); sacarose (10%) ou água destilada e, após 24 horas, submetidas à solução de tetrazólio, com três tipos de condicionamento: estufa (40 °C), banho maria (40 °C) ou temperatura ambiente. Após esse período de 24 horas, foi calculada a porcentagem de sementes viáveis (%SV) e aos 45 dias após a semeadura, foi calculada a porcentagem de germinação (%G) a nível de caracterização. O segundo experimento, objetivou-se avaliar a germinação e desenvolvimento inicial *in vitro* de orquídeas do gênero *Cattleya* Lindl. nativas do Cerrado brasileiro em função do espectro de luz. Após semeadura, as culturas foram acondicionadas sob os seguintes espectros de luz - L1: LED 100% branco (6.500K); L2: LED 100% vermelho; L3: LED 100% azul; L4: LED 50% azul + 50% vermelho; L5: LED 50% branco + 25% azul + 25% vermelho; L6: LED 75% azul + 25% vermelho; L7: LED 75% vermelho + 25% azul e L8: lâmpada branca fluorescente (6.500K). Aos 45 e 90 dias após a semeadura foi avaliada a porcentagem de germinação (%G) e o estabelecimento inicial dos propágulos. Em relação ao terceiro experimento, objetivou-se avaliar a germinação e desenvolvimento inicial *in vitro* de orquídeas do gênero *Cattleya* Lindl. nativas do Cerrado brasileiro em função de fontes de luz natural e artificial. Os frascos após serem inoculados, foram acondicionados sob as seguintes fontes de luz - L1: LED amarelo 3.000K ($128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L2: LED branco 6.500K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L3: lâmpada branca fluorescente 6.500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e L4: luz natural - $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Decorridos 45 e 90 dias após a semeadura, avaliou-se a porcentagem de germinação (%G) e o estabelecimento inicial dos propágulos. Para o experimento I, as espécies *C. nobilior* e *C. walkeriana*, nativas do Cerrado, o condicionamento em temperatura ambiente apresentou maior efeito na visualização das sementes, sugerindo que o teste de tetrazólio deve ser realizado nesta temperatura de condicionamento. Para o experimento II, os espectros de luz como L5 e L2 podem ser indicadas como substitutas para a L8, utilizadas em salas de crescimento. Em relação ao experimento III, a fonte de luz artificial como o L1 pode ser indicada como substituta para a L3, utilizada em salas de crescimento em laboratórios de cultivo *in vitro*.

Palavras-chave: Orchidaceae; Espécie nativa; Horticultura Ornamental

IN VITRO PROPAGATION OF *Cattleya* LINDL. (ORCHIDACEAE) NATIVES OF THE BRAZILIAN CERRADO IN FUNCTION OF THE LIGHT

ABSTRACT

In vitro cultivation is a valuable biotechnological tool in obtaining plants both for commercial cultivation and for research aimed at the preservation of species. Among them stand out *Cattleya nobilior* Rchb.f., and *Cattleya walkeriana* Gardner that belong to the Orchidaceae family. These plants are native to Brazil and are classified as near endangered and vulnerable, respectively. Thus, protocols for the *in vitro* technique vary depending on the species to be produced, thus making it necessary to adapt the procedure to each one of them. The objective of this work was to determine a methodology for the tetrazolium test, germination and the initial *in vitro* development of propagules of two orchids of the genus *Cattleya* native to the Brazilian Cerrado. Three independent experiments were carried out in the *In vitro* Cultivation Laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences, Federal University of Grande Dourados-UFGD. For the first experiment, the objective was to identify an adequate methodology to identify the viability of *Cattleya* seeds by the tetrazolium test, through three pre-conditioning: without imbibition (control); sucrose (10%) or distilled water and, after 24 hours, submitted to a tetrazolium solution, with three types of conditioning: oven (40 °C), water bath (40 °C) or room temperature. After this 24-hour period, the percentage of viable seeds (%SV) was calculated and at 45 days after sowing, the germination percentage (%G) at the characterization level was calculated. The second experiment aimed to evaluate the *in vitro* germination and initial development of orchids of the genus *Cattleya* Lindl. natives of the Brazilian Cerrado as a function of the light spectrum. After sowing, cultures were placed under the following light spectra - L1: 100% white LED (6,500K); L2: 100% red LED; L3: 100% blue LED; L4: 50% blue + 50% red LED; L5: LED 50% white + 25% blue + 25% red; L6: LED 75% blue + 25% red; L7: LED 75% red + 25% blue and L8: white fluorescent lamp (6,500K). At 45 and 90 days after sowing, the germination percentage (%G) and the initial establishment of the propagules were evaluated. Regarding the third experiment, the objective was to evaluate the *in vitro* germination and initial development of orchids of the genus *Cattleya* Lindl. natives of the Brazilian Cerrado due to natural and artificial light sources. After inoculation, the vials were placed under the following light sources - L1: 3,000K yellow LED ($128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L2: 6,500K white LED ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L3: 6,500K white fluorescent lamp ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and L4: natural light - $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. After 45 and 90 days after sowing, the germination percentage (%G) and the initial establishment of the propagules were evaluated. For experiment I, the species *C. nobilior* and *C. walkeriana*, native to the Cerrado, the conditioning at room temperature had a greater effect on the visualization of seeds, suggesting that the tetrazolium test should be performed at this conditioning temperature. For experiment II, light spectra such as L5 and L2 can be indicated as substitutes for L8, used in growth rooms. Regarding experiment III, an artificial light source such as L1 can be indicated as a substitute for L3, used in growth rooms in *in vitro* culture laboratories.

Keywords: Orchidaceae; Native species; Ornamental Horticulture

INTRODUÇÃO GERAL

Há milhões de anos, na Malásia, durante o período Cretáceo, a maioria das famílias das angiospermas tornavam-se diferenciadas (GARAY, 1972) e, atualmente, engloba cerca de aproximadamente 899 gêneros e 27.801 espécies com nomes aceitos, sendo a segunda maior família de plantas com flores (THE PLANT LIST, 2021). Para o Brasil, são listados 251 gêneros descritos, 2.692 espécies, das quais 1.490 são endêmicas do país. No Cerrado brasileiro, ocorrem 642 espécies, distribuídas em 113 gêneros (FLORA DO BRASIL EM CONSTRUÇÃO, 2021).

Orchidaceae se encontra entre as plantas ornamentais de maior apreciação e de valor comercial por suas características, tais como: tamanho da inflorescência, variedade, tamanho, número, coloração e durabilidade das flores, capacidade de combinação genética, além da indicação para uso na produção de flores de corte, vaso e como folhagem (PASQUAL et al., 2011; HUNHOFF et al., 2016). Essa representatividade é atribuída principalmente aos novos híbridos que são inseridos anualmente por produtores no mercado, resultantes de cruzamentos, sendo 2.345 cultivares (JUNQUEIRA e PEETZ, 2017).

A maioria das espécies do gênero *Cattleya* Lindl. são epífitas e possuem características que as unem, tais como: tamanho de pétalas e sépalas e variação de cores e perfumes de suas flores; além da morfologia floral, onde sépalas e pétalas são semelhantes. As sépalas são protetoras da parte floral interna, distinguindo-se entre uma sépala dorsal e duas sépalas laterais. As pétalas, também em número de três, não são fundidas entre si e apresentam diferenças morfológicas mais notórias: sendo duas pétalas laterais similares entre si, e a terceira, diferenciada e desenvolvida em labelo, e que serve como atrativo e como pista de aterrissagem para os agentes polinizadores. O labelo também pode apresentar em sua base um esporão nectarífero, além disso a evolução levou à redução do número de partes florais e à fusão das estruturas reprodutivas masculinas e femininas na coluna, constituindo uma característica primária da identificação de qualquer orquídea (NICOLAU, 2017) (Figura 1).

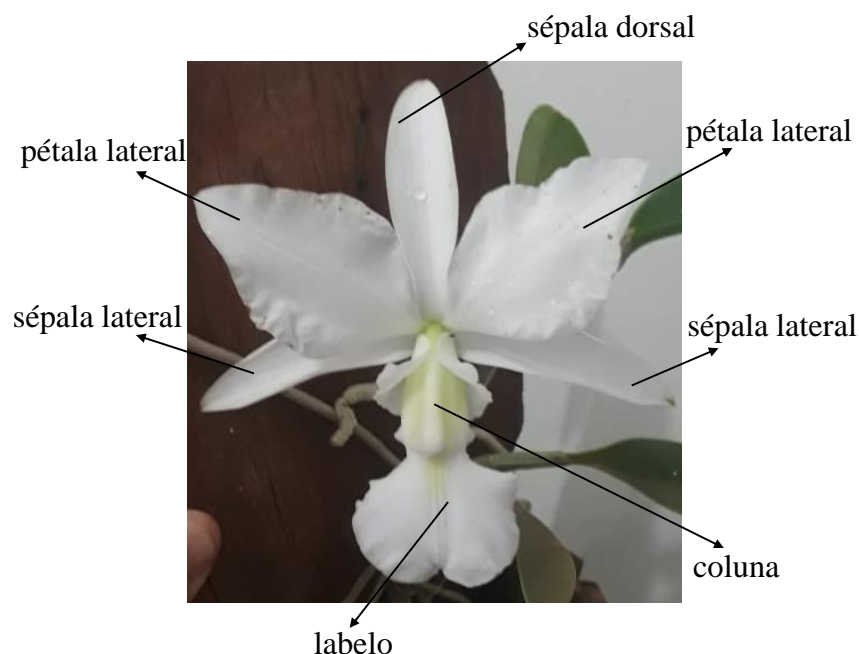


FIGURA 1. Aspectos morfológicos da flor de *Cattleya walkeriana* var. *alba* Gardner
Foto: RIBEIRO, L. M. 2019.

Os frutos pertencentes a esse gênero são capsulares e quase secos, raramente carnosos; as sementes são numerosas, minúsculas, com embrião rudimentar, desprovidas de endosperma (RODRIGUES, 2011). Todas essas características podem ser reunidas não somente em um único gênero, mas também em toda a família por conta da estrutura floral conservada (SUTTLEWORTH et al., 1994; APW, 2013).

Cattleya está entre os gêneros mais comercializados no Brasil, competindo com outras orquídeas como *Phalaenopsis* e *Dendrobium* (JUNQUEIRA e PEETZ, 2017). Possui cerca de 48 espécies distribuídas por toda América Tropical, região caracterizada por habitats de alta luminosidade e umidade relativa (FARIA, et al., 2010; CARDOSO, 2014; JUNQUEIRA e PEETZ, 2017). Além disso, no Brasil ocorrem 26 espécies desse gênero, o maior número entre todos os países, sendo 21 endêmicas (PINHEIRO, 2012; FLORA DO BRASIL EM CONSTRUÇÃO, 2021). De acordo com Pinheiro (2012) esse gênero é o mais importante dentro dessa família devido ao elevado valor ornamental, pelas flores grandes e com inúmeras cores, e também ao fato de que todas as espécies têm sido coletadas intensamente na natureza para cultivo. O autor salienta ainda que a elevada frequência com a qual vem ocorrendo essa procura tem levado a uma redução e desaparecimento de várias populações e, conseqüentemente, várias destas espécies apresentam-se ameaçadas de extinção. Vale ressaltar que desde a época

da colonização esse gênero de orquídeas vem enfrentando pressão extrativista (ARAÚJO, 2017).

A maioria das espécies do gênero *Cattleya* 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). As plantas desse gênero apresentam grande diversidade em seus aspectos anatômicos foliares, que, no entanto, convergem para aspectos acentuadamente xeromorfos (ambientes secos) associados ao epifitismo (ZANENGA-GODOY e COSTA, 2003).

Entre as espécies desse gênero que habitam o bioma Cerrado destacam-se a *C. walkeriana* Gardner e *C. nobilior* Lindl., também inseridas na lista vermelha de espécies ameaçadas (CNCFLORA, 2021).

A *Cattleya nobilior* Rchb.f., conhecida como a Rainha do Cerrado, é uma das mais valorizadas, e o título de seu nome é em razão da perfeita forma de suas flores, a espécie foi descrita pela primeira vez em 1883 por Reichenbach (OSTETTO, 2015). Essa espécie é encontrada nos Biomas Amazônia e Cerrado, e neste último, pode ser encontrada em matas secas, e em locais que apresentam longos períodos de estiagem e alta luminosidade, podendo ser de hábito rupícola ou epifítico. Apresenta flores de coloração rosa/escuro ou rosa claro/lilás, seu labelo possui formato trilobado, seus pseudobulbos têm entre 5 e 10 cm (pequeno porte), florescendo entre os meses de agosto a setembro. Além disso, sua distribuição ocorre nas regiões Centro Oeste, Nordeste e Norte (ARAÚJO, 2017; FLORA DO BRASIL EM CONSTRUÇÃO, 2021).

A espécie *C. nobilior* se encontra na lista vermelha da flora brasileira, sendo classificada como quase ameaçada (CNCFLORA, 2021), pois esta vem sofrendo uma redução populacional intensa, a qual pode ser em consequência da coleta predatória e exploração ilegal ou então em razão da substituição do habitat natural por plantio de soja no Cerrado (AUBERTIN e PINTON, 2013) (Figura 2).



FIGURA 2. Aspectos morfológicos da flor de *Cattleya nobilior* Rchb.f. Foto: SOARES, J. S. 2018.

Outra espécie que se destaca entre as *Cattleya* no cerrado é a *Cattleya walkeriana* Gardner., também de hábito rupícola e epifítico. Esta é a espécie mais primitiva dentre as do gênero *Cattleya*, seu ancestral comum deu origem a uma série de derivações, as quais comportam *C. amethystoglossa* Linden e Rchb.f. e *C. gutatta* Lindl. em um mesmo clado (PINHEIRO, 2012). Essa espécie pode ser considerada de pequeno porte dentro do seu gênero, com altura de aproximadamente 15 cm, pertencente ao grupo das *Cattleya* unifoliadas, embora raramente possam ocorrer pseudobulbos com duas folhas, estas são obovadas, suculento-coriáceas, de ápice arredondado, base obtusa paralelinérvias com apenas a nervura central aparente, além disso, à presença de estômatos apenas na face abaxial parece ser a regra entre os vários subgrupos da família Orchidaceae. Sobre ambas as faces foliares de *C. walkeriana* há cutícula espessa, esse espessamento é tido como caráter xeromórfico da espécie. Suas flores são de coloração rosa escuro a claro/lilás com labelo em formato trilobado (SILVA e MILANEZE-GUTIERRE, 2004; ARAÚJO, 2017).

Os pseudobulbos de *C. walkeriana* são fusiformes e formados por três entrenós, sendo que o apical ocupa, em média 64% da altura total dessa porção caulinar. As raízes são longas, relativamente grossas e por vezes ramificadas. É nativa e endêmica do Brasil, com distribuição no Centro-Oeste, Norte e Sudeste (SILVA e MILANEZE-GUTIERRE, 2004; ARAÚJO, 2017; FLORA DO BRASIL EM CONSTRUÇÃO, 2021), e além disso, de acordo com o Centro Nacional de Conservação da Flora essa espécie está classificada como vulnerável (CNCFLORA, 2021) (Figura 3).



FIGURA 3. Aspectos morfológicos da flor de *Cattleya walkeriana* Gardner. Foto: RIBEIRO, L. M. 2018.

Essas plantas possuem o ciclo de vida altamente especializado, suas sementes apresentam pouca ou nenhuma reserva nutritiva e a germinação em ambiente natural é dependente da associação com fungos micorrízicos, o que, somado ao extrativismo, resulta na vulnerabilidade da família, que está entre as mais seriamente ameaçadas de extinção (FAY, 2018; SUZUKI et al., 2018).

O armazenamento de sementes em bancos de germoplasma sob condições adequadas de baixa temperatura e umidade pode ser realizado, visto que as sementes são muito pequenas e numerosas, porém mesmo em condições favoráveis de armazenamento, a viabilidade dessas sementes pode ser afetada (HOSOMI et al., 2011). Dessa forma, um fator essencial para a formação de um banco de sementes de orquídeas é a identificação da viabilidade dessas sementes, que podem ser utilizadas tanto para a propagação e conservação de espécies nativas, quanto na produção comercial de mudas (SILVA et al., 2015; HOSOMI, 2017). Portanto, a utilização de testes rápidos, como o de tetrazólio, é importante, principalmente, para agilizar decisões quanto ao manejo desses bancos (MARCOS-FILHO, 2015).

Dessa forma, a metodologia para o teste de tetrazólio em sementes de Orchidaceae já foi proposta na literatura (HOSOMI et al. 2011; 2012; MACEDO et al. 2014; SOARES et al. 2014), no entanto mudanças nos procedimentos de pré-

condicionamento e de condicionamento das sementes para a realização do teste podem aumentar sua eficiência, já que objetivam melhorar a visualização das sementes viáveis (HOSOMI, 2017). Para Faria et al. (2012) e Yeung et al. (2018) a propagação seminífera de orquídeas em ambiente natural é vista como inviável, já que somente 2 a 3% dessas sementes germinam. Sendo assim, a busca por alternativas que visem integrar atividades, focadas tanto na conservação de espécies nativas dentro de áreas preservadas quanto na produção comercial de mudas, é um dos principais desafios para prevenir a diminuição de populações naturais (SILVA et al., 2015).

A técnica de germinação *in vitro* é uma alternativa para a propagação tanto comercial quanto para a conservação de espécies ameaçadas de extinção (CARDOSO, 2014; TEIXEIRA DA SILVA et al., 2017), além disso, esse técnica oferece um meio seguro para a troca internacional de material vegetal, possibilita o estabelecimento de coleções extensivas usando espaço mínimo, permite o fornecimento de material valioso para a recuperação da população nativa, facilitando as investigações moleculares e estudos ecológicos (PANDEY et al., 2015).

Vários fatores podem influenciar na germinação, no crescimento e no desenvolvimento do material vegetal quando cultivado *in vitro*, como o meio de cultura (LEMES et al., 2020), sistema de micropropagação (RIBEIRO et al., 2019) e condições de luz utilizadas para o cultivo (SORGATO et al., 2021).

A luz, por ser um recurso fundamental durante o ciclo de vida das plantas, controla as funções fisiológicas dos vegetais (MONTES e PAGÁN, 2019). A fonte de luz pode ser tanto artificial quanto natural, em ambientes *indoor* geralmente é a lâmpada fluorescente branca de amplo espectro (350 - 750 nm) e irradiância em torno de 20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (KITSINELIS, 2011). Porém, esta fonte de energia proporciona baixa irradiância e picos de comprimentos de onda pouco efetivos, que pode promover alterações morfofisiológicas que comprometem a sobrevivência das plantas quando são transferidas para o ambiente externo, que apresenta elevada demanda evaporativa, ocasionando a desidratação das plantas produzidas, com conseqüente morte ou atraso no processo de crescimento e desenvolvimento (KITSINELIS, 2011; GUPTA, 2017).

A luz natural pode ser uma alternativa para esse tipo de cultivo, 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 et al, 2012; SORGATO et al., 2021). A luz natural apresenta algumas vantagens, como o menor custo com manutenção, as instalações são

simplificadas o que diminui custos com a construção da sala de crescimento, o consumo de energia elétrica é menor, pois não há gastos com iluminação artificial e, durante a aclimatização o estresse causado à planta é menos intenso (KODYM e ZAPATA-ARIAS, 1999; CAMARGO et al., 2017). Essa tecnologia não é muito adotada por não estarem esclarecidos seus efeitos sobre as culturas que, convencionalmente, são condicionadas em luz artificial, com intensidades luminosas inferiores e com fotoperíodo e temperatura controlada (ERIG e SCHUCH, 2005; BRAGA et al., 2011).

Em salas de crescimento *in vitro*, a quantidade e espectro de luz proporcionada 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 e CHUNG, 2009; ROCHA et al., 2013). Além disso, os LEDs, podem reduzir os efeitos negativos do excesso da luz e fornecer a quantidade de luz necessária para o crescimento da planta, melhorando assim as condições para a otimização das concentrações de fitoquímicos tais como: flavonóides, resinas, taninos, ácidos triterpenóides e ácidos fenólicos dentre outros (GUPTA, 2017; BATALINI et al., 2020).

O conhecimento disponível a respeito de protocolos de propagação ainda é restrito a algumas espécies de orquídeas, assim, estudos sobre metodologia 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).

Sendo assim, com o intuito de aprimorar tanto a identificação da viabilidade de sementes de orquídeas em bancos de germoplasma, quanto a multiplicação *in vitro* dessas plantas, foram estudados metodologias de teste de tetrazólio, além da influência de fontes de luz natural e artificial na germinação e desenvolvimento inicial de orquídeas do gênero *Cattleya* cultivadas *in vitro*.

Diante do exposto, buscou-se com este trabalho avaliar a metodologia do teste de tetrazólio, germinação e desenvolvimento inicial *in vitro* de orquídeas do gênero *Cattleya* nativas do Cerrado brasileiro em função da luz.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APW (Angiosperm Phylogeny Website). **Asparagales: Orchidaceae**. 2013. Disponível em: <www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em 23 dezembro 2017.
- ARAÚJO, R. **Orquídeas Walkeriana**, São Paulo: Editora Europa, 2017. 79 p.
- AUBERTIN, C.; PINTON, F. **A invenção do bioma Cerrado, 2013**. Disponível em: <http://journals.openedition.org/confins/8218#quotation>. Acessado em: 05 de fevereiro de 2021.
- BATALINI, C.; STOCCO, L. O.; FERNANDES, R. T. S.; MARQUES JUNIOR, J. Avaliações fitoquímicas, fitotóxica e antifúngica da entrecasca do caule de *Pterodon pubescens* Benth (sucupira branca). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 77589-77607, 2020.
- BRAGA, F. T.; PASQUAL, M.; CASTRO, E. M.; RAFAEL, G. C. Características morfofisiológicas de abacaxizeiro ‘gomo de mel’ enraizado *in vitro* sob luz natural e substratos vermiculita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 551-557, 2011.
- BORGES, D. I. O. M. C.; PENONI, E. D. S.; 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. 09-16, 2011.
- CARDOSO, J. C. Levantamento de espécies da família Orchidaceae em Botucatu: potencial ornamental e cultivo. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 7-13, 2014.
- CHUGH, S.; GUHA, S.; RAO, I. U. Micropropagation of orchids: A review on the potential of different explants. **Scientia Horticulturae**, v. 122, n. 1, p. 507-520, 2009.
- CAMARGO, S. S.; MENEGUZZI, A.; FAGHERAZZI, M. M.; RUFATO, L. Multiplicação *in vitro* em condições fotoautotróficas do porta-enxerto de pereira seleção ‘21714’. **Revista da Jornada da Pós-graduação e Pesquisa – Congrega**, v. 14, n. 14, p. 01-12, 2017.
- CNCFLORA. **Lista Vermelha 2020**. Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/listavermelha/ORCHIDACEAE>. Acesso em: 15 janeiro 2021b.
- 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.

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Micropropagação fotoautotrófica e uso da luz natural. **Revista Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 961-965, 2005.

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

FARIA, R. T.; ASSIS, A. M.; UNEMOTO, L. K.; CARVALHO, J. F. R. P. **Produção de Orquídeas em Laboratório**. Londrina: Mecenas, 2012. 124 p.

FAY, M. F. Orchid conservation: how can we meet the challenges in the twenty-first century?. **Botanical Studies**, v. 59, n. 16, p. 01-06, 2018.

FLORA DO BRASIL EM CONSTRUÇÃO. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acessado em: 12 janeiro 2021.

GARAY, L. A. On the origin of the Orchidaceae II. **Journal of the Arnold Arboretum**, Boston, v. 53, n. 1, p. 202-215, 1972.

GUPTA, S. D. **Light emitting diodes for agriculture**. Singapore: Springer, 2017. 334 p.

HOSOMI, S. T. **Sementes de orquídeas: conservação e avaliação de viabilidade**. Tese de Doutorado - Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente – MS, 2017.

HOSOMI, S. T.; CUSTÓDIO, C. C.; SEATON, P. T.; MARKS, T. R. Improved assessment of viability and germination of *Cattleya* (Orchidaceae) seeds following storage. **In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant**, v. 48, n. 1, p. 127-136, 2012.

HOSOMI, S. T.; SANTOS, R. B.; CUSTÓDIO, C. C.; MACHADO NETO, N. B. Preconditioning *Cattleya* seeds to improve the efficacy of the tetrazolium test for viability. **Seed Science and Technology**, v. 39, n. 1, p. 178-189, 2011.

HUNHOFF, V. L.; SILVA, C. A.; LAGE, L. A.; KRAUSE, W.; PALÚ, E. G. Biologia, morfologia floral e potencial ornamental de *Cyrtopodium saintlegerianum* (Orchidaceae). **Revista AgroAmbiente**, v. 10, n. 4, p. 358– 363, 2016.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M.S. Brazilian consumption of flowers and ornamental plants: habits, practices and trends. **Ornamental Horticulture**, v. 23, n. 2, p.178-184, 2017.

KITSINELIS, S. **Light sources: technologies and applications**, USA: CRC Press, 2011. 226 p.

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**, v. 55, n. 2, p. 141-145, 1999.

LEMES, C. S. R.; SORGATO, J. C.; SOARES, J. S.; NUNES, D. P.; RIBEIRO, L. M. Initial *in vitro* establishment of the native Cerrado Orchid *Miltonia flavescens*. **Floram**, v. 27, n. 4, p. e20180221, 2020.

MARCOS-FILHO, J. Seed vigor testing: An overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, v. 72, n. 4, p. 363-374, 2015.

MONTES, N.; PAGÁN, I. Light intensity modulates the efficiency of virus seed transmission through modifications of plant tolerance. **Plants**, v. 8, n. 1, p. 02-15, 2019.

OSTETTO, S. **Orquídeas de Mato Grosso do Sul**. Campo Grande: Alvorada, 2015. 141 p.

PANDEY, R.; SHARMA, N.; AGRAWAL, A.; GUPTA, S.; HUSSAIN, Z.; JAIN, A.; TYAGI, R. K. *In vitro* and cryopreservation of vegetatively propagated crops. In: JACOB, S. R.; SINHG, N.; SRINIVASAN, K.; GUPTA, V.; RADHAMANI, J.; KAK, A.; PANDEY, C.; PANDEY, S.; ARAVIND, J.; BISHT, I. S.; TYAGI, R. K. (eds) Management of plant genetic resources. **ICAR-National Bureau of Plant Genetic Resources**, 2015. 204 p.

PASQUAL, M.; SOARES, J. D. R.; RODRIGUES, F. A.; ARAUJO, A. G.; SANTOS, R. R. Influência da espectro de luz e silício no crescimento *in vitro* de orquídeas nativas e híbridas. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 324-329, 2011.

PINHEIRO, C. L. **Ecofisiologia do estresse luminoso em espécies de *Cattleya Lindl.* (Orchidaceae)**. 2012. 100p. Dissertação de Mestrado em Biodiversidade Tropical (Ecofisiologia Tropical) – Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo – ES.

RIBEIRO, L. M.; SORGATO, J. C.; SCALON, S. P. Q.; SOARES, J. S.; RIBEIRO, I. S. Influência da luz, ventilação natural e tamanho do frasco no crescimento e desenvolvimento de Denphal (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 14, n. 3, p. e5957, 2019.

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, n. 1, p. 14-19, 2013.

RODRIGUES, V. T. **Ochidaceae Juss. Aspectos morfológicos e taxômicos**. São Paulo: Instituto de Botânica de São Paulo, 2011. 19 p.

SILVA, 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.

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.

SILVA, C. I.; MILANEZE-GUTIERRE, M. A. Caracterização morfo-anatômico dos órgãos vegetativos de *Cattleya walkeriana* Gardner (Orchidaceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 26, n. 1, p. 91-100, 2004.

SILVA, J. A. T.; CARDOSO, J. C.; DOBRÁNSZKI, J.; ZENG, S. *Dendrobium* micropropagation: a review. **Plant cell reports**, v. 34, n. 5, p. 671-704, 2015.

SOARES, J. S. **Técnicas de cultivo *in vitro* como alternativa para a conservação de *Schomburgkia crispata* Lindl. (Orchidaceae) e sua reintrodução em ambiente natural.** 2018. 101p. Tese de Doutorado em Recursos Naturais – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados – MS.

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.

SORGATO, J. C.; MUDOLON, E. D.; GUIMARÃES, F. F.; SOARES, J. S.; RIBEIRO, L. M. Light sources on the germination and initial *in vitro* establishment of *Schomburgkia crispata* Lindl., a species of the Brazilian Cerrado, v. 51, n. 3, p. e20190022, 2021.

SUTTLEWORTH, F. C.; ZIM, H. S.; DILLON, G. W. **Orquídeas: Guia dos orquidófilos.** Londrina: Editora Expressão e Cultura, 1994. 158 p.

SUZUKI, A. B. P.; BERTONCELLI, D. J.; ALVES, G. A. C.; FARIA, R. T. Criopreservação de sementes da orquídea brasileira em extinção *Cattleya granulosa* Lindl. **Iheringia, Série Botânica**, v. 73, n. 2, p. 146-150, 2018.

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.

THE PLANT LIST. **A working list of all plant species.** Disponível em: <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Orchidaceae/>. Acesso em: 25 janeiro 2021.

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

ZANENGA-GODOY, R.; COSTA, C. G. Anatomia foliar de quatro espécies do gênero *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) do planalto central brasileiro. **Acta botânica brasílica**, v. 17, n. 1, p. 101-103, 2003.

CAPÍTULO I – METODOLOGIA DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA IDENTIFICAÇÃO DE SEMENTES VIÁVEIS DE ORQUÍDEAS DO GÊNERO *Cattleya* NATIVAS DO CERRADO BRASILEIRO

**(ARTIGO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA SEMINA: CIÊNCIAS
AGRÁRIAS - v. 42, n. 3, MAIO/JUN. 2021)**

RESUMO

As orquídeas necessitam de medidas para a conservação de suas espécies, entre essas a formação de bancos de sementes. Objetivou-se identificar metodologia adequada para a identificação da viabilidade de sementes de *Cattleya* por meio do teste de tetrazólio. Sementes de *Cattleya nobile* Rchb.f. e *Cattleya walkeriana* Gardner, foram submetidas a três pré-condicionamentos: sem embebição (controle); sacarose (10%) ou água destilada. Decorridas 24 horas, foram submetidas à solução de tetrazólio, com três tipos de condicionamento: estufa (40 °C), banho maria (40 °C) ou temperatura ambiente. Após esse período foi calculada a porcentagem de sementes viáveis (%SV). Foi realizada a semeadura *in vitro* e, após 45 dias, determinada a porcentagem de germinação (%G). Para essas espécies de *Cattleya* nativas do Cerrado, o condicionamento em temperatura ambiente apresentou maior efeito na visualização das sementes, sugerindo que o teste de tetrazólio deve ser realizado nesta temperatura de condicionamento.

Palavras-chave: Banco de sementes, Espécies nativas, Orchidaceae, Teste de viabilidade.

TETRAZOLIUM TEST METHODOLOGY FOR IDENTIFYING VIABLE SEEDS OF GENUS *Cattleya* NATIVES IN THE BRAZILIAN CERRADO

ABSTRACT

Orchids need measures for the conservation of their species, among them the formation of seed banks. The objective of this study was to identify an adequate methodology to identify the viability of *Cattleya* seeds by means of the tetrazolium test. Seeds of *Cattleya nobilior* Rchb.f. and *Cattleya walkeriana* Gardner, were submitted to three preconditions: no imbibition (control); sucrose (10%) or distilled water. After 24 hours, they were submitted to the tetrazolium solution, with three types of conditioning: greenhouse (40 °C), water bath (40 °C) or room temperature. After this period the percentage of viable seeds (%SV) was calculated. Seeding was carried out *in vitro* and, after 45 days, the percentage of germination (%G) was determined. For these *Cattleya* species native to the Cerrado, conditioning at room temperature had a greater effect on the seed visualization, suggesting that the tetrazolium test should be performed at this conditioning temperature.

Keywords: Seed bank, Native species, Orchidaceae, Feasibility test.

INTRODUÇÃO

As orquídeas destacam-se entre as plantas ornamentais devido à sua capacidade de combinação genética, beleza, diversidade de cor, forma e durabilidade de suas flores (ZAHARA et al., 2017). De acordo com Fay (2018), as espécies epífitas ainda possuem grande importância ecológica nas comunidades florestais, contribuindo com a manutenção da biodiversidade. Ainda, alguns gêneros também possuem potencial alimentício e farmacológico. No Brasil, a família é composta por 251 gêneros, dos quais fazem parte 2.692 espécies, sendo 1.490 endêmicas (BARROS et al., 2018a). No Cerrado brasileiro, ocorrem 642 espécies, distribuídas em 113 gêneros, sendo a terceira e mais representativa família da biodiversidade vegetal (BATISTA et al., 2005; BARROS et al., 2018).

Dentre essas, estão *Cattleya nobilior* Rchb.f., que apresenta hábito rupícola ou epífita, com flores rosa/escuro ou rosa claro/lilás e labelo em formato trilobado e pequeno porte (5 até 10 cm) (BARROS et al., 2018b). De acordo com a Flora do Brasil (BARROS et al., 2018b) a espécie é nativa, com distribuição nas regiões Centro Oeste, Nordeste e Norte. Já *Cattleya walkeriana* Gardner. é uma espécie rupícola ou epífita, nativa e endêmica do Brasil, com distribuição no Centro-Oeste, Norte e Sudeste (BARROS et al., 2018c). É uma planta de pequeno porte (pseudobulbos até 10 cm), possui flores de coloração rosa escuro a claro/lilás com labelo em formato trilobado (ARAÚJO, 2017).

Essas plantas possuem o ciclo de vida altamente especializado, suas sementes apresentam pouca ou nenhuma reserva nutritiva e a germinação em ambiente natural é dependente da associação com fungos micorrízicos, o que, somado ao extrativismo, resulta na vulnerabilidade da família, que está entre as mais seriamente ameaçadas de extinção (FAY, 2018; SUZUKI et al., 2018).

Nesse sentido, para a conservação das espécies nativas, torna-se necessária a associação de métodos de conservação *in situ* e *ex situ*, tais como a propagação *in vitro* e a formação de bancos de sementes (YANG et al., 2017; FAY, 2018). Assim, o armazenamento de sementes de orquídeas pode ser uma maneira simples e fácil de conservação da variabilidade genética das espécies (MACHADO NETO e CUSTÓDIO, 2005; SEATON et al., 2018). Entretanto, mesmo as sementes sendo armazenadas em condições adequadas, sua viabilidade pode ser afetada (HOSOMI, 2017).

Para identificação da qualidade das sementes de orquídeas, utiliza-se o teste de tetrazólio (2,3,5, trifenil cloreto de tetrazólio), por ser um teste de fácil realização e que fornece resultados rápidos (HOSOMI et al., 2011; SOARES et al., 2014). Contudo, informações sobre métodos de realização deste teste para espécies nativas ainda são escassas, principalmente para as espécies de orquídeas do Cerrado brasileiro (HOSOMI, 2017).

Devido à importância ecológica e econômica das espécies de orquídeas do Cerrado, objetivou-se identificar metodologias adequadas para a identificação da viabilidade de sementes de *Cattleya nobilior* Rchb.f. e *Cattleya walkeriana* Gardner. por meio do teste de tetrazólio.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultivo *in vitro* da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados-UFGD. Foram utilizadas sementes de *Cattleya nobilior* Rchb.f. oriundas de Reserva Particular de Patrimônio Natural Buraco das Araras (S 21°29'31" e W 56°24'11") e *Cattleya walkeriana* Gardner. doadas pelo pesquisador Dr. Renato F. Galdiano Júnior.

Onze meses após a polinização, as cápsulas fechadas foram coletadas e as sementes provenientes destas, foram retiradas homogeneizadas, pesadas e mantidas em dessecador, com sílica gel, por 15 dias. Sementes de cada espécie foram embaladas separadamente em papel alumínio e armazenadas em frascos de polipropileno opaco, com tampa rosqueável, providos de sílica gel, e mantidos sob refrigeração a 4 ± 2 °C, por até 180 dias.

Para a realização do teste, quarenta e oito amostras de 0,001g das sementes armazenadas de cada espécie foram alocadas em tubos de ensaio. Conjuntos de 12 tubos com capacidade para 10 mL foram submetidos ao pré-condicionamento (P) com três pré-tratamentos de embebição: P1 - sem embebição (controle); P2 - 3 mL de solução de sacarose (10%) por 24 horas e P3 - 3 mL de água destilada por 24 horas. Após 24 horas do pré-condicionamento, a tríplice lavagem das sementes foi realizada com água destilada e essas foram submetidas a 3 mL de solução aquosa de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio (0,5%), e transferidas para ambientes desprovidos de luz por 24 horas, com três tratamentos de condicionamento (C): C1 - estufa (40 °C); C2 - banho maria (40 °C) e C3 - temperatura ambiente (25 ± 2 °C), com oito repetições de um tubo de ensaio cada.

Decorridas 24 horas, as suspensões foram acrescidas de 7 mL de água destilada e agitadas, sendo pipetado 1 mL para identificação e contagem de sementes viáveis, em câmara de Peters, com o auxílio de um microscópio estereoscópico binocular com zoom. Foi contabilizado o número de sementes que apresentaram embriões completamente coloridos de carmim, o número de sementes com embriões parcialmente corados, incolores e desprovidas de embrião, sendo as três últimas consideradas inviáveis. Desta maneira, foi determinado o percentual de sementes viáveis (%SV) por meio da seguinte fórmula:

$$\% SV = \frac{\text{N}^\circ \text{ de sementes com embriões totalmente coloridos} \times 100}{\text{N}^\circ \text{ total de sementes observadas}}$$

Após Os tratamentos foram fotografados com auxílio de câmera digital acoplada ao microscópio estereoscópico, utilizando o programa computacional AxionVision versão 3.1 (Zeiss®).

Após a realização do teste, uma amostra de 0,005 g de sementes de cada espécie estudada, foi levada para ambiente asséptico e desinfestada com 15 mL de solução de hipoclorito de sódio a 0,8%, permanecendo imersa por cinco minutos. Decorrido este período, a suspensão de sementes foi diluída para 50 mL e em seguida recebeu tríplice lavagem com água destilada estéril (121 °C e 1 atm de pressão, por 20 minutos). Em seguida, o volume da suspensão foi completado para 50 mL com água destilada esterilizada. Na sequência, para a semeadura *in vitro*, inoculou-se 1000 µL da suspensão de sementes por frasco, totalizando quatro frascos de cultivo para cada espécie.

Foram utilizados 60 mL de meio de cultura Murashige e Skoog (1962), na metade da concentração de sais (MS ½) por frasco com capacidade para 600 mL. Posteriormente, as culturas foram acondicionadas em sala de crescimento com temperatura e fotoperíodo controlados (25±2 °C; 16 h) e irradiância de 22 µmol m⁻² s⁻¹, propiciada por lâmpadas fluorescentes brancas.

Após 45 dias de cultivo, foi avaliado a porcentagem de germinação. Para isso foram acrescidos 10 mL de água destilada em cada frasco de cultivo, e após a agitação manual a suspensão de sementes foi vertida em placa Petri e, com o auxílio de um microscópio estereoscópico binocular com *zoom*, contou-se o número total de sementes observadas e o número de propágulos germinados. A porcentagem de germinação (%G) foi calculada utilizando-se a seguinte fórmula:

$$\%G = \frac{\text{N}^\circ \text{ de propágulos germinados} \times 100}{\text{N}^\circ \text{ total de sementes observadas}}$$

Para cada espécie estudada, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC) e os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial 3x3x8 (três pré-condicionamentos, três condicionamentos, com oito repetições de um tubo de ensaio cada), sendo o experimento realizado em duplicata. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias, quando significativas, foram comparadas por meio do teste de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Ocorreu efeito conjunto ($p < 0,05$) dos pré-condicionamentos e condicionamentos sobre a porcentagem de sementes viáveis (%SV) para as duas espécies (Quadro 1).

QUADRO 1. Resumo da análise de variância da porcentagem de sementes viáveis (%SV) de *Cattleya nobilior* Rchb.f. e *Cattleya walkeriana* Gardner, em função dos pré-condicionamentos (P) e condicionamentos (C). UFGD, Dourados/MS, 2021.

<i>Cattleya nobilior</i> Rchb.f.		
FV	GL	...Quadrado médio... %SV
P	2	16000,79ns
C	2	10035,80ns
P x C	4	3619,09*
Erro	56	228,51
Total	71	81031,25
Média		64,15
C.V. (%)		14,11
<i>Cattleya walkeriana</i> Gardner		
FV	GL	...Quadrado médio... %SV
P	2	7724,21*
C	2	15202,15*
P x C	4	1320,06*
Erro	56	411,46
Total	71	78876,57
Média		47,66
C.V. (%)		24,21

FV: fator de variação; GL: grau de liberdade; *, ns: significativo e não significativo, pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Para *C. nobilior* observou-se as maiores %SV quando as sementes foram embebidas em P3 por 24 horas e posteriormente condicionadas em C3 (88,24%), embora sem diferença estatística daquelas embebidas em P2 (86,62%) e condicionadas em C3 (87,18%) e aquelas pré-condicionadas em P1 e condicionadas em C3 (82,73%) (Quadro 2).

QUADRO 2. Valores da porcentagem de sementes viáveis (%SV) de *Cattleya nobilior* Rchb.f., em função do pré-condicionamento e condicionamento no teste de tetrazólio. UFGD, Dourados/MS, 2021.

Pré-condicionamento	%SV		
 Condicionamento		
	Estufa (C1)	Banho maria (C2)	Temp. ambiente (C3)
Controle (P1)	9,30 bB	11,03 bB	82,73 aA
Sacarose (P2)	86,62 aA	65,73 aB	87,18 aA
Água destilada (P3)	86,67 aA	59,89 aB	88,24 aA
Média	60,86	45,55	86,05
C.V. %	14,11		

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

Para *C. walkeriana*, as maiores %SV foram observadas quando as sementes foram embebidas em P2 por 24 horas e posteriormente condicionadas em C3 (87,58%), não diferindo estatisticamente entre os pré-condicionamento P1 e P2 condicionadas em C3 (67,16 e 68,57% respectivamente) (Quadro 3).

Quadro 3. Valores da porcentagem de sementes viáveis (%SV) de *Cattleya walkeriana* Gardner., em função do pré-condicionamento e condicionamento no teste de tetrazólio. UFGD, Dourados/MS, 2021.

Pré-condicionamento	%SV		
 Condicionamento		
	Estufa (C1)	Banho maria (C2)	Temp. ambiente (C3)
Controle (P1)	9,70 bB	8,64 bB	67,16 aA
Sacarose (P2)	36,89 aB	67,69 aA	87,58 aA
Água destilada (P3)	26,88 abB	55,87 aA	68,57 aA
Média	24,49	44,07	74,44
C.V. %	24,21		

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

Os resultados observados para as duas espécies de *Cattleya* (Figura 1 e 2) sugerem que protocolos específicos devem ser utilizados na condução do teste de

tetrazólio para melhor visualização de sementes viáveis de orquídeas.

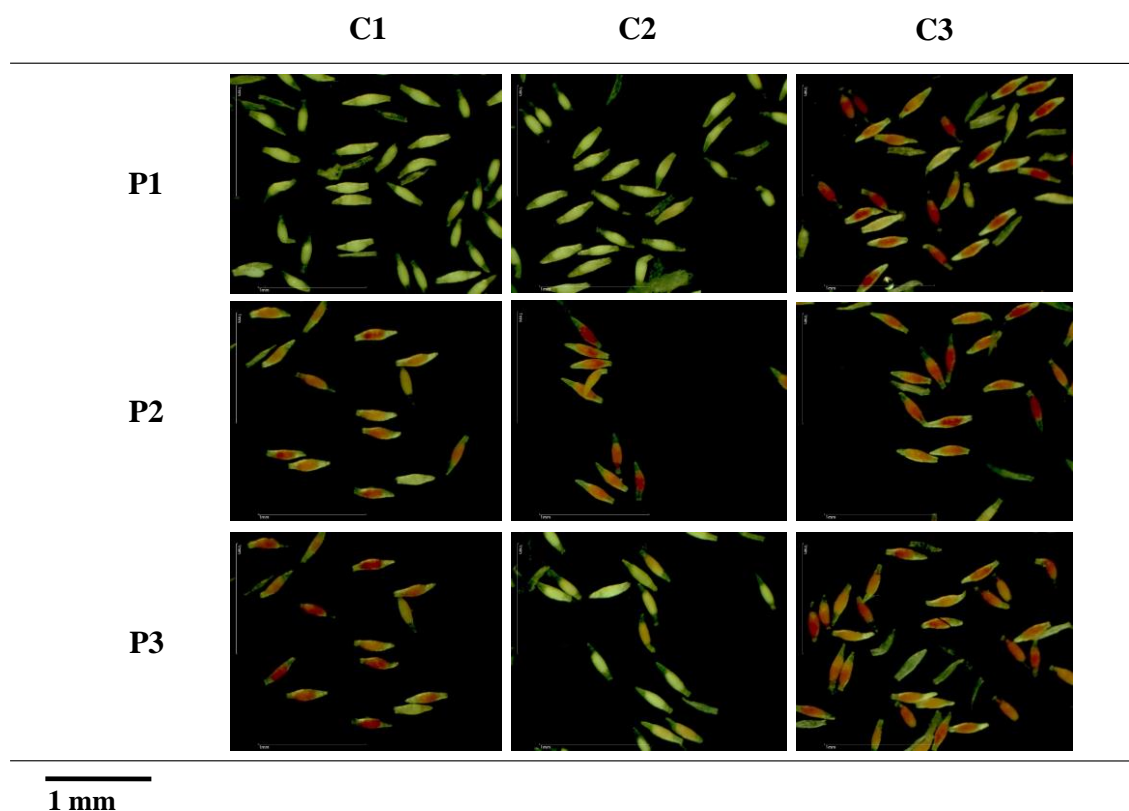


FIGURA 1. Sementes de *Cattleya nobilior* Rchb.f., em função do pré-condicionamento (P1 - sem embebição (controle), P2 - 3 mL de solução de sacarose (10%) por 24 horas e P3 - 3 mL de solução destilada por 24 horas) e condicionamento (C1 - estufa (40 °C), C2 - banho maria (40 °C) e C3 - temperatura ambiente (25±2 °C) no teste de tetrazólio. UFGD, Dourados/MS, 2021.

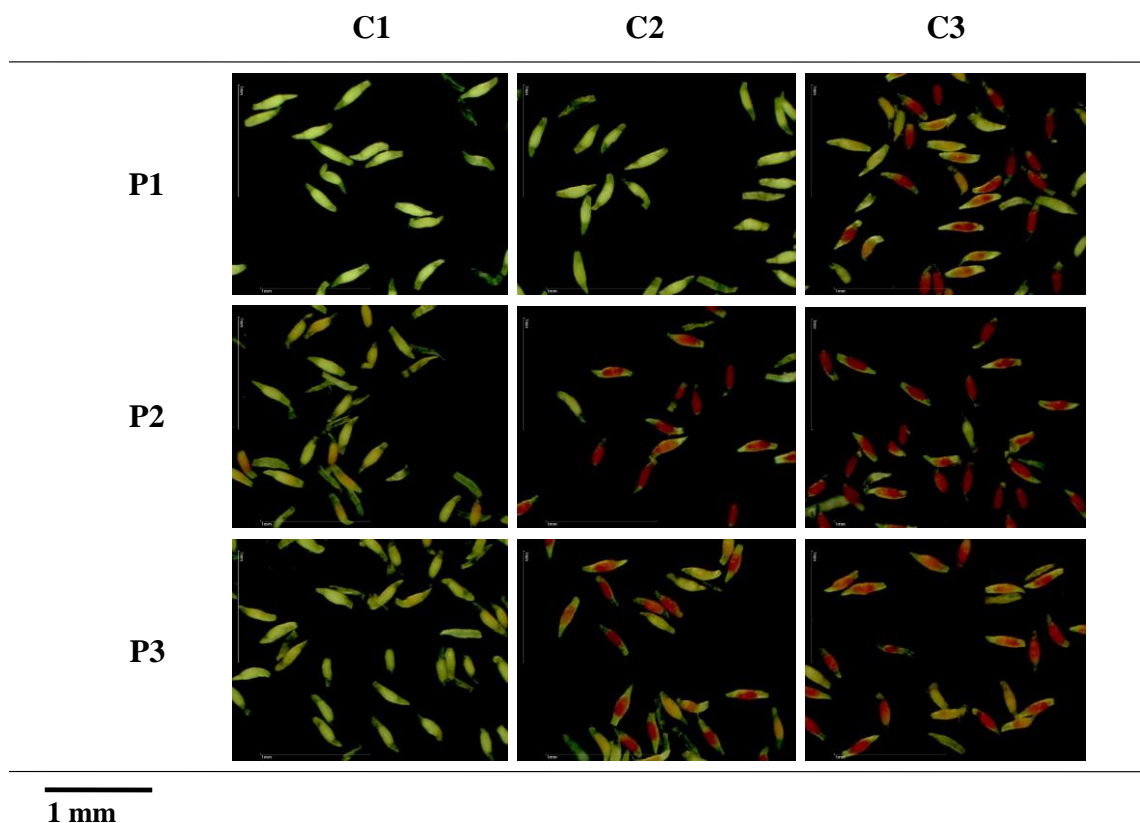


FIGURA 2. Sementes de *Cattleya walkeriana* Gardner., em função do pré-condicionamento (P1 - sem embebição (controle), P2 - 3 mL de solução de sacarose (10%) por 24 horas e P3 - 3 mL de solução destilada por 24 horas) e condicionamento (C1 - estufa (40 °C), C2 - banho maria (40 °C) e C3 - temperatura ambiente (25±2 °C) no teste de tetrazólio. UFGD, Dourados/MS, 2021.

Os maiores valores de viabilidade encontrados no teste de tetrazólio foram próximos aos de germinação (%G) nas duas espécies estudadas. *C. nobilior* apresentou %SV = 88,24% e %G = 97,34%, enquanto que em *C. walkeriana* observou-se %SV = 87,58% e %G = 95,22%, aos 45 dias após semeadura.

DISCUSSÃO

Hosomi et al. (2017) ressaltam que, o uso de diferentes pré-condicionamentos e condicionamentos das sementes, pode facilitar a penetração da solução de tetrazólio nos tecidos a serem avaliados. Os resultados obtidos neste trabalho permitem inferir que, tanto para *C. nobilior* quanto para *C. walkeriana*, o condicionamento das sementes em temperatura ambiente (C3) auxiliou na precisão do teste de tetrazólio. Sendo assim, a

temperatura durante o teste pode ser um fator determinante no aumento da visualização das sementes viáveis dessas espécies.

Estes mesmos autores, trabalhando com espécies do mesmo gênero, mas nativas da Mata Atlântica (*Cattleya labiata* Lindl. e *Cattleya tigrina* A.Rich.), observaram que a utilização de solução de glicose ou sacarose a 10% no pré-condicionamento, resultou em melhor visualização das sementes durante o teste de tetrazólio. No entanto, para as espécies utilizadas neste trabalho, a temperatura durante a realização do teste foi mais importante que o pré-condicionamento das sementes.

Segundo Carneiro (2014), essa variação de respostas em relação ao teste de tetrazólio entre espécies de orquídeas de domínios fitogeográficos diferentes, pode estar relacionada com a grande diversidade da família Orchidaceae. Ainda Oliveira et al. (1996) ressaltam que as espécies de orquídeas do Cerrado, principalmente as do gênero *Cattleya*, possuem adaptações para longos períodos de estiagem e resistência à baixa umidade relativa do ar, conseguindo dessa forma, diminuir a desidratação de seus tecidos, o que pode ter influência na fisiologia das suas sementes.

Os resultados de sementes viáveis próximos, porém inferiores aos de germinação podem ser explicados pelo modo de ação do teste, uma vez que este reflete a atividade das enzimas desidrogenases envolvidas no processo de respiração, tornando possível diferenciar as partes vivas das sementes daquelas mortas, que não colorem (OLIVEIRA et al., 2005). As regras para análise de sementes (BRASIL, 2009) ressaltam ainda que embriões parcialmente corados de carmim podem ou não ser viáveis, uma vez que a posição e o tamanho das áreas necrosadas é que determinam a viabilidade das sementes. Desta maneira, a maior %G pode ter ocorrido pois sementes que foram consideradas inviáveis no teste de tetrazólio podem ter germinado em condições adequadas.

CONCLUSÃO

Para as espécies *Cattleya nobilior* e *Cattleya walkeriana*, nativas do Cerrado, o teste de tetrazólio deve ser efetuado em temperatura ambiente, o que, levando em consideração a importância da conservação das espécies, facilita a identificação de sementes viáveis entre os lotes em bancos de germoplasma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, R. **Orquídeas Walkeriana**, São Paulo: Editora Europa, 2017. 79 p.
- BARROS, F.; HALL, C. F.; PAIVA NETO, V. B.; BATISTA, J. A. Check-list das Orchidaceae do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Iheringia, Série Botânica**, v. 73, n. 1, p. 286-296, 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. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB179>. Acessado em: 03 agosto 2018a.
- 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. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB20010>. Acessado em: 10 março 2018b.
- 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. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB31789>. Acessado em: 04 dezembro 2018c.
- BATISTA, J. A. N.; BIANCHETTI, L. B.; PELIZZARO, K. F. Orchidaceae da Reserva Ecológica do Guará, DF, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 2, p. 221-232, 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária, Brasília: MAPA/ACS. 399 p. 2009.
- CARNEIRO, L. L. **Pré-melhoramento genético, floração *in vitro* e criopreservação de orquídeas nativas do Cerrado**. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Goiás, Goiânia – MS, 2014.
- CESTARI, C. Epiphyte plants use by birds in Brazil. **Oecologia Brasiliensis**, v. 13, n. 4, p. 689-712, 2009.
- CUSTÓDIO, C. C.; MARKS, T. R.; PRITCHARD, H. W.; HOSOMI, S. T.; MACHADO-NETO, N. B. Improved tetrazolium viability testing in orchid seeds with a thick carapace (*Dactylorhiza fuchsii*) or dark seed coat (*Vanda curvifolia*). **Seed Science and Technology**, v. 44, n. 1, p. 177-188, 2016.
- FAY, M. F. Orchid conservation: how can we meet the challenges in the twenty-first century?. **Botanical Studies**, v. 59, n. 16, p. 01-06, 2018.

HOSOMI, S. T. **Sementes de orquídeas: conservação e avaliação de viabilidade.** Tese de Doutorado - Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente – MS, 2017.

HOSOMI, S. T.; CUSTÓDIO, C. C.; SEATON, P. T.; MARKS, T. R. Improved assessment of viability and germination of *Cattleya* (Orchidaceae) seeds following storage. ***In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant***, v. 48, n. 1, p. 127-136, 2012.

HOSOMI, S. T.; SANTOS, R. B.; CUSTÓDIO, C. C.; MACHADO NETO, N. B. Preconditioning *Cattleya* seeds to improve the efficacy of the tetrazolium test for viability. ***Seed Science and Technology***, v. 39, n. 1, p. 178-189, 2011.

HOSOMI, S. T.; SOUZA, T. B.; CUSTÓDIO, C. C.; MACHADO NETO, N. B. Refining the tetrazolium test for evaluation of *Cattleya labiata* and *C. tigrina* seeds viability. ***Australian Journal of Crop Science***, v. 11, n. 10, p. 1320-1326, 2017.

MACHADO NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C. A medium for non-commercial sowing of orchid seed. ***Selbyana***, v. 26, n. 1-2, p. 316-317, 2005.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. ***Physiology Plantarum***, v. 15, n. 1, p. 473-497, 1962.

OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO, M. L. M.; DAVIDE, A. C. Teste de tetrazólio para avaliação de sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert - leguminosae caesalpinioideae. ***Cerne***, v. 11, n. 2, p. 159-166, 2005.

OLIVEIRA, R. S.; BATISTA, J. A. N.; PROENÇA, C. E. B.; BIANCHETTI, L. Efeito do fogo na floração de espécies de Orchidaceae em Cerrado. In: MIRANDA, H. S.; DIAS, B. F. S.; SAITO, C. H. (eds) Impacto de queimadas em área de Cerrado e restinga. **Universidade de Brasília**, 1996. 61-67 p.

SEATON, P. T.; HOSOMI, S. T.; CUSTÓDIO, C. C.; MARKS, T. R.; MACHADO NETO, N. B.; PRITCHARD, H. W. Orchid seed and pollen: a toolkit for long-term storage, viability assessment and conservation. In: LEE, Y.; YEUNG, E. C. (eds) Orchid propagation: from laboratories to greenhouses - methods and protocols. **Humana press**, 2018. 71-98 p.

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. 275-2284, 2014.

SUZUKI, A. B. P.; BERTONCELLI, D. J.; ALVES, G. A. C.; FARIA, R. T. Criopreservação de sementes da orquídea brasileira em extinção *Cattleya granulosa* Lindl. ***Iheringia, Série Botânica***, v. 73, n. 2, p. 146-150, 2018.

YANG, F. S.; SUN, A. H.; ZHU, J.; DOWNING, J.; SONG, X. Q.; LIU, H. Impacts of host trees and sowing conditions on germination success and a simple *ex situ* approach to generate symbiotic seedlings of a rare epiphytic orchid endemic to Hainan Island, China. ***The Botanical Review***, v. 83, n. 1, p. 74-86, 2017.

ZAHARA, M.; DATTA, A.; BOONKORCAEW, 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, n. 1, p. 01-15, 2017.

CAPÍTULO II – GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL IN VITRO DE ORQUÍDEAS DO GÊNERO *Cattleya* NATIVAS DO CERRADO BRASILEIRO EM FUNÇÃO DA ESPECTRO DE LUZ

RESUMO

Mesmo com o avanço nas técnicas de cultivo *in vitro* para a obtenção de mudas com qualidade fisiológica, ainda são insuficientes os dados acerca dos tipos de fontes de luz e ajustes espectrais adequados ao crescimento de propágulos de orquídeas nativas do Cerrado. Para tanto, objetivou-se avaliar a germinação e desenvolvimento inicial *in vitro* de orquídeas do gênero *Cattleya* nativas do Cerrado brasileiro em função do espectro de luz, foi necessário para responder esta questão. Após semeadura em ambiente asséptico, as culturas foram acondicionadas em sala de crescimento sob os seguintes espectros de luz - L1: LED 100% branco (6.500K); L2: LED 100% vermelho; L3: LED 100% azul; L4: LED 50% azul + 50% vermelho; L5: LED 50% branco + 25% azul + 25% vermelho; L6: LED 75% azul + 25% vermelho; L7: LED 75% vermelho + 25% azul e L8: lâmpada branca fluorescente (6.500K). Aos 45 e 90 dias após a semeadura foi avaliada a porcentagem de germinação (%G) e o estabelecimento inicial dos propágulos. Os propágulos foram avaliados quanto à sua porcentagem em estágio 1 (%P1), 2 (%P2), 3 (%P3) e 4 (%P4). De maneira geral, todos os espectros proporcionaram a germinação de *Cattleya nobilior* Rchb.f., no entanto foi fator limitante para a germinação de *Cattleya walkeriana* Gardner. Aos 90 dias de semeadura, observou-se que a utilização do L5 proporcionou maior %P4 de *C. nobilior* e com menor mortalidade de plântulas, porém na utilização do L2, houve maior %P4 de *C. walkeriana*. Cada espécie de orquídea responde diferente a determinado espectro de luz utilizado. As fontes de luz como L5 e L2 podem ser indicadas como substitutas para a L8, utilizadas em salas de crescimento em laboratórios de cultivo *in vitro*.

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

GERMINATION AND INITIAL *IN VITRO* DEVELOPMENT OF ORCHIDS OF THE GENUS *Cattleya* NATIVES OF THE BRAZILIAN CERRADO AS A FUNCTION OF THE SPECTRUM OF LIGHT

ABSTRACT

Even with the advance in *in vitro* cultivation techniques to obtain seedlings with physiological quality, there are still insufficient data on the types of light sources and spectral adjustments suitable for the growth of propagules of native Cerrado orchids. Therefore, the objective was to evaluate the germination and initial development *in vitro* of orchids of the genus *Cattleya* native to the Brazilian Cerrado as a function of the light spectrum, it was necessary to answer this question. After sowing in an aseptic environment, cultures were placed in a growth room under the following light spectra - L1: 100% white LED (6,500K); L2: 100% red LED; L3: 100% blue LED; L4: 50% blue + 50% red LED; L5: LED 50% white + 25% blue + 25% red; L6: LED 75% blue + 25% red; L7: LED 75% red + 25% blue and L8: white fluorescent lamp (6,500K). At 45 and 90 days after sowing, the germination percentage (%G) and the initial establishment of the propagules were evaluated. The propagules were evaluated for their percentage in stage 1 (%P1), 2 (%P2), 3 (%P3) and 4 (%P4). In general, all spectra provided the germination of *Cattleya nobilior* Rchb.f., however it was a limiting factor for the germination of *Cattleya walkeriana* Gardner. At 90 days of sowing, it was observed that the use of L5 provided higher %P4 of *C. nobilior* and with lower seedling mortality, but when using L2 there was a higher %P4 of *C. walkeriana*. Each species of orchid responds differently to a particular light spectrum used. Light sources such as L5 and L2 can be indicated as replacements for L8, used in growth rooms in *in vitro* culture laboratories.

Keywords: Light-emitting diode, Native species, Ornamental horticulture, Orchidaceae.

INTRODUÇÃO

Orchidaceae é uma das maiores e mais representativas famílias dentre as Angiospermas (THE PLANT LIST, 2021). A Flora do Brasil em construção (2021), lista 642 espécies distribuídas em 113 gêneros dentro da composição florística do Cerrado brasileiro, sendo que no estado de Mato Grosso do Sul são encontradas 92 espécies pertencentes a 38 gêneros.

De maneira geral, as espécies de orquídeas nativas possuem elevado potencial ornamental, o que as torna muito visadas comercialmente. Esse fato faz com que a extração de maneira desordenada dessas espécies, seja um dos principais fatores para a diminuição das populações no Cerrado (CARDOSO, 2017). Duas espécies que se destacam nesse Bioma são *Cattleya nobilior* Rchb.f. e *Cattleya walkeriana* Gardner, sendo a última endêmica do país. Essas espécies possuem hábito epifítico ou rupícola, e sua distribuição conjunta ocorre nas regiões Centro Oeste e Norte (FLORA DO BRASIL EM CONSTRUÇÃO, 2021). De acordo com o Centro Nacional de Conservação da Flora essas espécies estão classificadas como quase ameaçada e vulnerável, respectivamente (CNCFLORA, 2021a).

No seu habitat as orquídeas dependem da interação entre fatores bióticos e abióticos, que atuam em sua germinação, crescimento, desenvolvimento e sucesso reprodutivo, determinando sua sobrevivência. A distribuição e a abundância dessas espécies, em condições naturais, são limitadas e reduzidas por ações antropogênicas, o que resulta na vulnerabilidade dessa família botânica (FAJARDO et al., 2017; GALE et al., 2018). Sendo assim, a busca por alternativas que visem integrar atividades, focadas tanto na conservação de espécies nativas dentro de áreas preservadas, quanto na produção comercial de mudas, é um dos principais desafios para prevenir a diminuição de populações naturais (SILVA et al., 2015).

Diante do exposto, as lâmpadas de LEDs (*Light-Emitting Diode*) vem sendo utilizadas como fonte de energia luminosa na propagação, principalmente em ambientes *indoor* (AGARWAL e GUPTA, 2016; SORGATO et al., 2021), com o objetivo de otimizar o processo de produção de plantas cultivadas *in vitro* (TEIXEIRA DA SILVA et al., 2015; SORGATO et al., 2021), pois atuam em diversos processos metabólicos dos vegetais (ZHANG et al., 2015). Os efeitos promocionais ou inibitórios da espectro de luz sobre as plantas são traços intrínsecos de cada espécie (GODO et al., 2009).

O espectros de luz que são reconhecidas como mais importante para o crescimento das plantas são azul e vermelho, pois são essenciais em processos fisiológicos como a fotossíntese, porém poucos são os estudos relatando os efeitos morfofisiológicos sobre as orquídeas nativas em relação ao ajuste da composição espectral entre vermelho e azul (LIN et al., 2013; ZHA et al., 2020; RIBEIRO et al., 2019).

Zha et al. (2020) explicam que o espectro de luz azul (comprimento de onda curto - UV-A) é propício para síntese de ascorbato (molécula ascorbante molécula de defesa (ácido orgânico antioxidante) em plantas, essa molécula é importante na defesa de tecidos fotossintético contra o estresse fotoxidativo. Já Ma et al. (2014) salientam que o espectro de luz vermelha poderia suprimir efetivamente a redução dos níveis de ascorbato, porém esse mesmo espectro de luz, induz a abertura estomática em folhas intactas, processo fisiológico chave que regula a absorção de CO₂ e perda de água nas plantas (ZHU et al. 2019).

O Uso de LEDs proporcionam diversas vantagens como, alta durabilidade, tamanho reduzido, baixa emissão de calor, faixa espectral específico e eficiência em conversão de energia elétrica em luminosa, sendo possível obter dias longos com menor consumo de energia e economia no custo de produção (BATISTA et al., 2018; PINHEIRO et al., 2019). O uso de iluminação artificial e controlada como LEDs, pode reduzir os efeitos negativos do excesso da luz e fornecer a quantidade de luz necessária para o crescimento da planta (GUPTA, 2017), melhorando assim as condições para a otimização das concentrações de fitoquímicos tais como: ascorbato, flavonoides, resinas, taninos, ácidos triterpenóides e ácidos fenólicos dentre outros, em vegetais produzidos em ambientes controlados (BATALINI et al., 2020; ZHA et al., 2020).

Diante do exposto, foram testadas as hipóteses: 1. Os espectros da luz influenciaram a germinação de sementes de *Cattleya* nativas do Cerrado; 2. As espécies testadas respondem de modo distinto às diferentes irradiâncias nos diferentes estádios de desenvolvimento. Considerando a importância na propagação e conservação das espécies de orquídeas nativas, e a necessidade de dados sobre as relações entre o espectro de luz proporcionado por lâmpadas LEDs e sua potencial influência na morfogênese de orquídeas, objetivou-se avaliar a germinação e o desenvolvimento inicial *in vitro* de orquídeas do gênero *Cattleya* Lindl. nativas do Cerrado brasileiro em função de diferentes espectros de luz.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento 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). Foram utilizadas como material de estudo, sementes de *Cattleya nobilior* Rchb.f. oriundas de Reserva Particular de Patrimônio Natural Buraco das Araras (S 21°29'31" e W 56°24'11") e sementes de *Cattleya walkeriana* Gardner, doadas pelo pesquisador Dr. Renato F. Galdiano Júnior.

Os frutos foram abertos e as sementes foram acondicionadas em dessecador com sílica gel (25 ± 2 °C; 75% UR) por 15 dias. Após esse período, uma amostra de 0,005 g de sementes de cada espécie foi avaliada quanto à viabilidade pelo teste de tetrazólio (SOARES et al., 2014), sendo descartada após a confirmação da viabilidade.

Para a germinação das sementes e desenvolvimento inicial dos protocormos e plântulas, foi utilizado o meio MS $\frac{1}{2}$ (MURASHIGE e SKOOG, 1962), solidificado com 7,0 g L⁻¹ de ágar bacteriológico (Himedia®, Índia) e suplementado com 30 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 com tampa rosqueável com capacidade de 600 mL, sendo que cada frasco recebeu 60 mL do referido meio de cultivo. Posteriormente, os frascos foram esterilizados em autoclave a 121 °C e 1,1 atm de pressão, por 20 minutos. Após atingir temperatura ambiente (25 ± 2 °C) os frascos foram transferidos para ambiente estéril.

Em seguida, foram pesadas 0,005 g de sementes de cada espécie, sendo levadas para ambiente asséptico e desinfestadas conforme metodologia descrita por Soares et al. (2020). Posteriormente, a suspensão de sementes foi diluída para 50 mL com água destilada estéril e em seguida recebeu tríplice lavagem com água destilada estéril (40 mL por lavagem), sendo a água descartada após cada lavagem. Após este procedimento, o volume da suspensão foi completado para 50 mL com água destilada estéril para a semeadura *in vitro*, sendo inoculados 1 mL da suspensão de sementes por frasco.

Após a inoculação, os frascos foram vedados com filme plástico de policloreto de vinila (filme PVC) e acondicionados em sala de crescimento com temperatura, fotoperíodo e irradiância controlados (25 ± 2 °C; 16 h; 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) sob os seguintes espectros de luz – L1: LED 100% branco (6.500K); L2: LED 100% vermelho; L3: LED 100% azul; L4: LED 50% azul + 50% vermelho; L5: LED 50% branco + 25% azul +

25% vermelho; L6: LED 75% azul + 25% vermelho; L7: LED 75% vermelho + 25% azul e L8: lâmpada branca fluorescente (6.500K) (Figura 1).

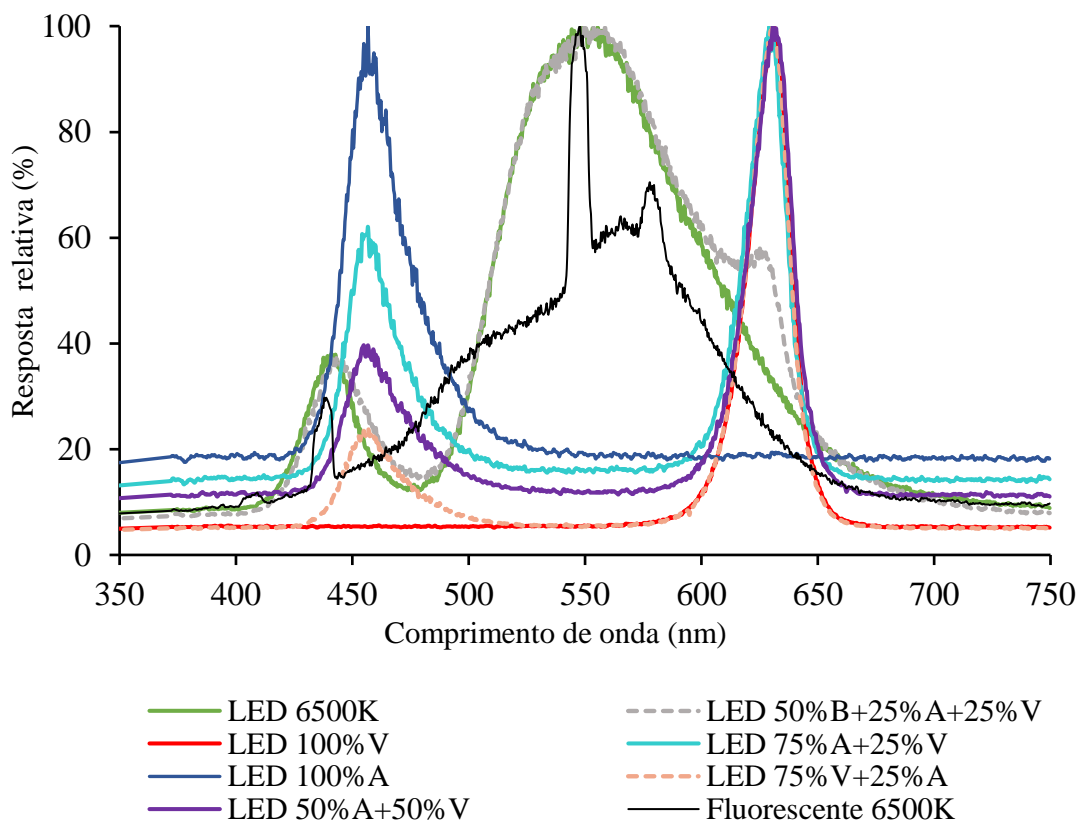


FIGURA 1. Distribuição espectral de energia relacionada as fitas de LEDs e a lâmpada fluorescente. UFGD, Dourados/MS, 2021.

Decorridos 45 dias da semeadura, foi avaliada a porcentagem de germinação de cada espécie. Os materiais contidos nos frascos foram lavados com água destilada estéril e acondicionados em placas de acrílico (2,0 x 2,0 x 0,5 cm), quadriculadas (0,5 x 0,5 cm). Este procedimento foi repetido até não restar nenhuma semente ou propágulo no frasco de cultivo. Com auxílio de microscópio estereoscópico binocular com zoom foram contados o número de sementes não germinadas (NS) e o de propágulos clorofilados (NPC). A porcentagem de germinação (%G) foi calculada pela seguinte expressão: $\%G = [NPC / (NS + NPC)] \times 100$.

As avaliações do estabelecimento inicial foram realizadas aos 45 e 90 dias após a semeadura. Aos 45 dias foram utilizados os mesmos frascos da avaliação da germinação e aos 90 dias foram abertos novos frascos para avaliação. Os propágulos

foram avaliados quanto à sua porcentagem em estágio 1 (%P1), 2 (%P2), 3 (%P3) e 4 (%P4). Para à avaliação dos estádios de propágulos, foi considerado como estágio 1 (protocormos intumescido), estágio 2 (plântula com formação da primeira folha), estágio 3 (plântula com duas folhas) e estágio 4 (plântula com folhas e uma ou mais raízes) (SUZUKI et al., 2009) (Figura 2).

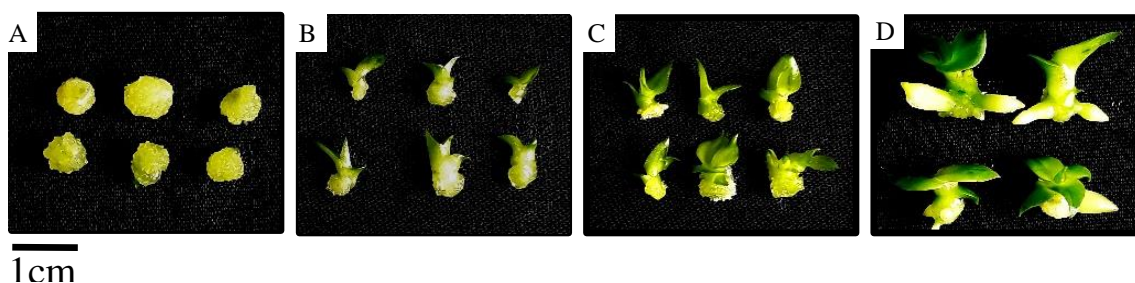


FIGURA 2. Morfologia geral dos estádios de desenvolvimento de protocormos e plântulas até a formação de plantas de *Cattleya nobilior* Rchb.f. A) Estádio 1 = protocormo intumescido clorofilado; B) Estádio 2 = plântula com formação da primeira folha; C) Estádio 3 = plântula com duas folhas; D) Estádio 4= plântula com folhas e uma ou mais raízes. UFGD, Dourados/MS, 2021.

Também foi mensurado, com auxílio de paquímetro digital, o tamanho dos propágulos (do ápice à base) (mm) após 90 dias da sementeira. Todos os tratamentos foram fotografados com câmera acoplada ao microscópico estereoscópico, com auxílio do programa computacional AxionVision versão 3.1 (Zeiss®).

Para cada espécie em estudo, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com oito tratamentos (espectro de luz) com quatro repetições de um frasco de cultivo cada. Os resultados foram transformados para $\sqrt{(x+1)}$ e, a seguir, submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$) utilizando o programa SISVAR (Programa de Análises Estatísticas v.5.3. Universidade Federal de Lavras, MG).

RESULTADOS

Germinação e desenvolvimento inicial aos 45 dias após a sementeira.

Não foi observado efeito significativo do espectro de luz ($p < 0,05$) sobre a porcentagem de germinação (%G) de *C. nobilior*, havendo efeito sobre a porcentagem de protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), em estágio 3 (%P3)

e de protocormos clorofilados (%PC) e não clorofilados (%PNC) para essa espécie. Para *C. walkeriana*, houve efeito do espectro de luz ($p < 0,05$) para todas as características avaliadas (Quadro 1).

QUADRO 1. Resumo da análise de variância da porcentagem de germinação (%G), protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), e em estágio 3 (%P3), de protocormos clorofilado (%PC) e não clorofilado (%PNC) de *Cattleya nobilior* Rchb.f. e *Cattleya walkeriana* Gardner, aos 45 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

<i>Cattleya nobilior</i> Rchb.f.							
FV	GLQuadrado médio.....					
		%G	%P1	%P2	%P3	%PC	%PNC
EL	7	16,67 ^{ns}	1289,66*	1105,40*	29,65*	48,93*	48,94*
Total	31	498,52	12072,32	10986,42	539,44	686,94	686,99
Média		97,18	36,16	62,41	1,42	93,67	6,33
C.V. (%)		2,00	17,47	14,92	15,01	2,12	30,02
<i>Cattleya walkeriana</i> Gardner							
FV	GLQuadrado médio.....					
		%G	%P1	%P2	%P3	%PC	%PNC
EL	7	187,17*	1109,46*	986,66*	9,42*	805,81*	805,81*
Total	31	2135,60	10006,30	9572,10	202,18	6512,38	6512,38
Média		89,10	65,51	22,15	1,40	80,31	19,68
C.V. (%)		3,43	8,01	25,43	15,50	3,74	18,17

FV: fator de variação; GL: grau de liberdade; EL: espectro de luz; *, ^{ns}: significativo e não significativo, pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Para *C. nobilior*, observou-se média geral de %G = 97,18. Em relação à avaliação da porcentagem de propágulos, foi observado que aos 45 dias, a maior %P1 ocorreu em L6 com 57,99%, mas não diferindo estatisticamente do L3, L7 e L5 com 57,45%, 44,42% e 42,09%, respectivamente.

As maiores médias em %P2 (88,76% e 80,62%) foram verificadas nos tratamentos L2 e L8 respectivamente (Quadro 2). De maneira geral, a maioria das plântulas ficaram em estágio 2 durante os primeiros 45 dias de cultivo *in vitro*, com média geral de 62,42%.

QUADRO 2. Protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), em estágio 3 (%P3), de protocormos clorofilado (%PC) e não clorofilado (%PNC) de *Cattleya nobilior* Rchb.f., em função do espectro de luz (EL): 100% branco (L1); 100% vermelho (L2); 100% azul (L3); 50% azul + 50% vermelho (L4); 50% branco + 25% azul + 25% vermelho (L5); 75% azul + 25% vermelho (L6); 75% vermelho + 25% azul (L7) e lâmpada branca fluorescente (L8), aos 45 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

EL	%P1	%P2	%P3	%PC	%PNC
L1	32,30 b	67,69 b	0,00 b	91,49 b	8,51 a
L2	11,25 c	88,76 a	0,00 b	96,78 a	3,22 b
L3	57,45 a	42,55 c	0,00 b	92,16 b	7,84 a
L4	31,46 b	64,19 b	4,35 a	95,98 a	4,02 b
L5	42,09 a	57,92 c	0,00 b	91,34 b	8,66 a
L6	57,99 a	42,01 c	0,00 b	91,68 b	8,32 a
L7	44,42 a	55,58 c	0,00 b	89,91 b	10,09 a
L8	12,37 c	80,62 a	7,01 a	100,00 a	0,00 b
Média	36,17	62,42	1,42	93,67	6,33
C.V. (%)	17,47	19,41	15,01	2,12	30,02

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

A utilização do L8 proporcionou maiores %P3 com 7,01%, mas sem diferença estatística do L4 com 4,35%. Não foram observadas plântulas em estágio 4 aos 45 dias após semeadura de *C. nobilior*. Dessa forma, pode-se inferir que o uso de LEDs 50% azul + 50% vermelho e lâmpada branca fluorescente em salas de crescimento podem promover desenvolvimento de plântulas dessa espécie em curto período de tempo.

Quanto a mortalidade dos propágulos, a lâmpada L8 e os LEDs L2 e L4 apresentaram as maiores %PC com 100,00%, 96,78% e 95,98% respectivamente. Já o uso dos LEDs L7, L5, L1, L6 e L3 acarretaram as maiores %PNC com 10,09%, 8,66%, 8,52%, 8,32% e 7,84% respectivamente (Quadro 2).

Para a propagação de *C. walkeriana*, o uso dos LEDs L2, L6, L7, L3 e a lâmpada fluorescente L8, apresentaram as maiores %G com 97%, 96%, 92%, 91% e 93% respectivamente, não diferindo significativamente entre si. Dessa forma, pode-se inferir que o espectro de luz influencia na germinação dessa espécie.

Com relação a porcentagem de propágulos, constatamos que a maior %P1 ocorreu na utilização do L6 com valores médios de 100,00% e L1 com 91,49%, mas não diferindo significativamente entre si. Para plântulas em estágio 2, houve maior porcentagem na L2 com %P2 = 49,68, não diferindo do L8 e L4 com 42,43% e 32,09%, respectivamente. Os espectros de luz L8, L2, L4 e L5 proporcionaram as maiores %P3

com médias de 3,75%, 3,15%, 3,12% e 2,53% respectivamente, não diferindo significativamente entre si. No entanto, não foram observadas plântulas em estágio 4 aos 45 dias após sementeira.

Quanto a sobrevivência dos propágulos, a utilização do L8, L6 e L7 proporcionaram as maiores %PC com 100,00%, 94,51% e 91,72% respectivamente, sem diferença entre si. No entanto quando foram utilizadas L4, L1 e L5 verificou-se os maiores %PNC com 37,33%, 33,45%, 33,35% respectivamente.

Enquanto *C. nobilior* apresentou maior % de P2 aos 45 dias de cultivo, para *C. walkeriana*, no mesmo tempo de cultivo, a maioria dos propágulos ainda se encontrava em estágio 1, com média geral de 73,95%. Ainda, houve maior média de %PNC na espécie *C. walkeriana* (19,68%) em relação a *C. nobilior* (6,33%) (Quadros 2 e 3).

Quadro 3. Porcentagem de germinação (%G), de protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), e em estágio 3 (%P3), de protocormos clorofilado (%PC) e não clorofilado (%PNC) de *Cattleya walkeriana* Gardner, em função do espectro de luz (QL): 100% branco (L1); 100% vermelho (L2); 100% azul (L3); 50% azul + 50% vermelho (L4); 50% branco + 25% azul + 25% vermelho (L5); 75% azul + 25% vermelho (L6); 75% vermelho + 25% azul (L7) e lâmpada branca fluorescente (L8), aos 45 dias após a sementeira. UFGD, Dourados/MS, 2021.

EL	%G	%P1	%P2	%P3	%PC	%PNC
L1	81 b	91,49 a	8,51 c	0,00 b	66,55 c	33,45 a
L2	97 a	47,16 c	49,68 a	3,15 a	81,54 b	18,45 b
L3	91 a	78,79 b	21,21 b	0,00 b	78,86 b	21,13 b
L4	78 b	64,79 c	32,09 a	3,12 a	62,67 c	37,33 a
L5	86 b	77,61 b	19,87 b	2,53 a	66,65 c	33,35 a
L6	96 a	100,00 a	0,00 c	0,00 b	94,52 a	5,48 c
L7	92 a	77,91 b	22,08 b	0,00 b	91,72 a	8,28 c
L8	93 a	53,82 c	42,43 a	3,75 a	100,00 a	0,00 c
Média	89,10	73,95	24,48	1,57	80,31	19,68
C.V. (%)	3,43	8,63	24,78	15,50	3,74	18,17

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Ao observar a Figura 3, pode-se verificar que, visualmente, os protocormos e plântulas tiveram pouca variação no tamanho, independente do estágio de desenvolvimento ou dos diferentes espectros de luz.

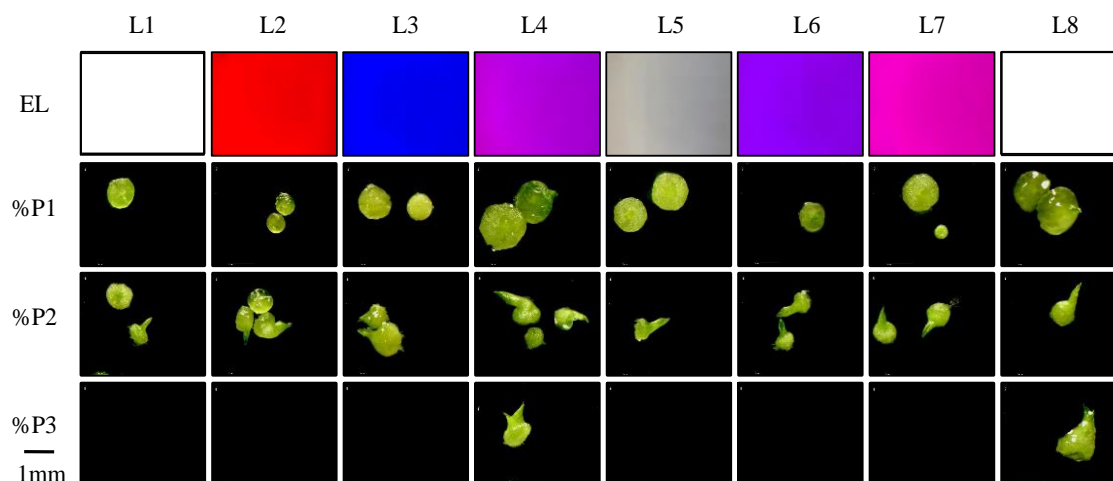


FIGURA 3. Protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), e em estágio 3 (%P3) de *Cattleya nobilior* Rchb.f., em função do espectro de luz (EL): 100% branco (L1); 100% vermelho (L2); 100% azul (L3); 50% azul + 50% vermelho (L4); 50% branco + 25% azul + 25% vermelho (L5); 75% azul + 25% vermelho (L6); 75% vermelho + 25% azul (L7) e lâmpada branca fluorescente (L8), aos 45 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

Em relação a Figura 4, os protocormos e plântulas de *C. walkeriana* apresentaram, visualmente, variação no tamanho dependendo do espectro de luz utilizado. Quanto aos protocormos em estágio 1, L5 e L6 proporcionaram os menores tamanhos.

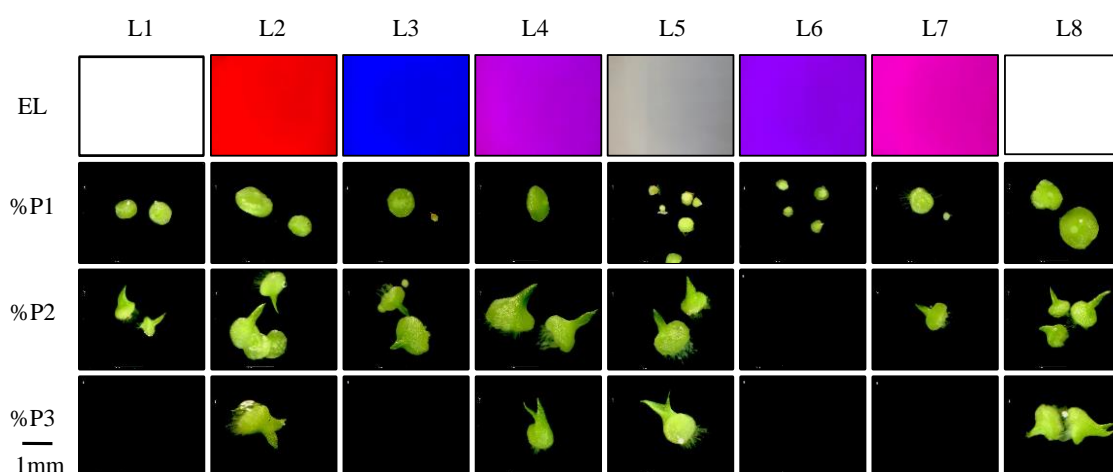


FIGURA 4. Protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), e em estágio 3 (%P3) de *Cattleya walkeriana* Gardner, em função do espectro de luz (EL): 100% branco (L1); 100% vermelho (L2); 100% azul (L3); 50% azul + 50% vermelho (L4); 50% branco + 25% azul + 25% vermelho (L5); 75% azul + 25% vermelho (L6); 75% vermelho + 25% azul (L7) e lâmpada branca fluorescente (L8), aos 45 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

Desenvolvimento inicial aos 90 dias após a semeadura.

Aos 90 dias de cultivo *in vitro*, verificou-se o efeito do espectro de luz ($p < 0,05$) sobre a porcentagem de protocormos em estágio 1 (%P1), de plântulas em estágio 3 (%P3) e estágio 4 (%P4) para *C. nobilior*. Já para *C. walkeriana*, houve efeito do espectro de luz ($p < 0,05$) para todas as características avaliadas (Quadro 4).

QUADRO 4. Resumo da análise de variância da porcentagem de protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), em estágio 3 (%P3) e estágio 4 (%P4) de *Cattleya nobilior* Rchb.f. e *Cattleya walkeriana* Gardner, aos 90 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

<i>Cattleya nobilior</i> Rchb.f.					
FV	GLQuadrado médio.....			
		%P1	%P2	%P3	%P4
EL	7	150,97*	343,85 ^{ns}	264,57*	638,58*
Total	31	1346,93	6010,31	3194,66	8303,04
Média		7,15	26,20	18,26	48,39
C.V. (%)		24,28	26,00	27,23	12,87
<i>Cattleya walkeriana</i> Gardner					
FV	GLQuadrado médio.....			
		%P1	%P2	%P3	%P4
EL	7	981,35*	296,90*	678,74*	232,25 ^{ns}
Total	31	12835,96	3147,41	6215,68	3235,76
Média		40,76	13,75	23,58	15,89
C.V. (%)		18,14	23,30	17,49	30,60

FV: fator de variação; GL: grau de liberdade; EL: espectro de luz; *, ns: significativo e não significativo, pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Para a *C. nobilior*, aos 90 dias de cultivo, a maior %P1 foi observada com a utilização de L1, com média de 18,38%. Em relação ao %P2 não foi verificada diferença estatística entre os tratamentos, ainda que o maior valor da média registrada (45,48%) tenha sido observado em L3. A maior %P3 foi verificada quando utilizou-se L2 (29,95%), não diferindo de L6 e L7 com médias de 26,00% e 25,75% respectivamente. Houve maior %P4 com os espectros de luz L5 e L8, com valores médios de 68,32% e 66,52% respectivamente (Quadro 5).

QUADRO 5. Porcentagem de protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), em estágio 3 (%P3) e estágio 4 (%P4) de *Cattleya nobilior* Rchb.f., em função do espectro de luz (EL): 100% branco (L1); 100% vermelho (L2); 100% azul (L3); 50% azul + 50% vermelho (L4); 50% branco + 25% azul + 25% vermelho (L5); 75% azul + 25% vermelho (L6); 75% vermelho + 25% azul (L7) e lâmpada branca fluorescente (L8), aos 90 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

EL	%P1	%P2	%P3	%P4
L1	18,38 a	29,23 a	12,63 b	39,75 b
L2	0,00 c	28,00 a	29,95 a	42,01 b
L3	6,89 c	45,48 a	13,44 b	34,19 b
L4	11,77 b	28,26 a	16,80 b	43,16 b
L5	3,65 c	21,78 a	6,24 b	68,32 a
L6	10,75 b	21,20 a	26,00 a	42,05 b
L7	1,56 c	21,59 a	25,75 a	51,10 b
L8	4,15 c	14,05 a	15,27 b	66,52 a
Média	7,15	26,20	18,26	48,39
C.V. (%)	24,28	26,00	27,23	12,87

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Já para *C. walkeriana*, a L7 acarretou em maior %P1 (74,45%), no entanto sem diferença dos demais espectros de luz, L6, L8, L5, L4, L3 com médias de 57,21%, 50,47%, 48,10%, 45,23% e 40,96%, respectivamente. Com relação à maior %P2, os LEDs L3, L1 e L2 proporcionaram melhores resultados, apresentando médias de 28,58%, 22,33% e 17,64% respectivamente.

Os maiores valores (48,21%) de %P3 foram observados com a utilização de L2. Quanto à formação de plântulas em estágio 4, no LED L2 verificamos melhores resultados, com %P4 = 28,23, sem diferença significativa dos demais espectros de luz (Quadro 6).

QUADRO 6. Porcentagem de protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), em estágio 3 (%P3) e estágio 4 (%P4) de *Cattleya walkeriana* Gardner, em função do espectro de luz (EL): 100% branco (L1); 100% vermelho (L2); 100% azul (L3); 50% azul + 50% vermelho (L4); 50% branco + 25% azul + 25% vermelho (L5); 75% azul + 25% vermelho (L6); 75% vermelho + 25% azul (L7) e lâmpada branca fluorescente (L8), aos 90 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

EL	%P1	%P2	%P3	%P4
L1	30,79 b	22,33 a	32,01 b	14,88 a
L2	5,91 c	17,64 a	48,21 a	28,23 a
L3	40,96 a	28,58 a	21,46 c	9,00 a
L4	45,23 a	5,37 b	30,68 b	18,72 a
L5	48,10 a	10,22 b	19,79 c	21,90 a
L6	57,21 a	14,81 b	15,53 c	12,45 a
L7	74,45 a	6,58 b	10,53 c	8,45 a
L8	50,47 a	13,05 b	17,50 c	18,98 a
Média	44,14	14,82	24,46	16,58
C.V. (%)	17,28	23,30	18,28	30,60

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Os diferentes espectros de luz utilizados no desenvolvimento inicial *in vitro* de *C. nobilior*, influenciaram no tamanho dos propágulos. Aos 90 dias após a semeadura, observou-se a presença de protocormos e plântulas em todos os estádios de desenvolvimento em todos os tratamentos, exceto para L2 que não apresentou protocormos em estágio 1 (Figura 5).

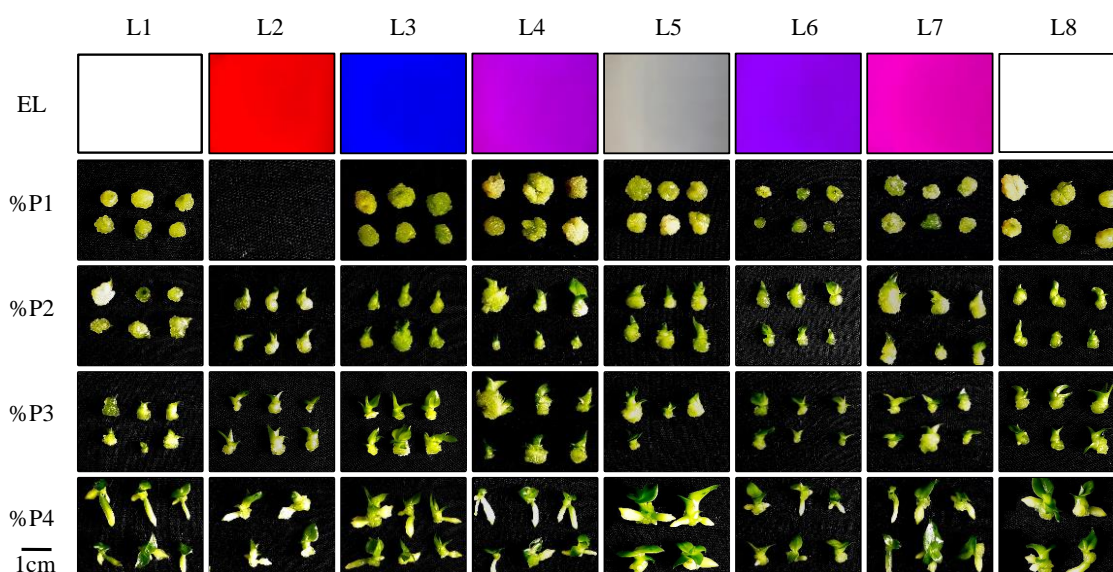


FIGURA 5. Protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), em estágio 3 (%P3) e estágio 4 (%P4) de *Cattleya nobilior* Rchb.f., em função do espectro de luz (EL): 100% branco (L1); 100% vermelho (L2); 100% azul

(L3); 50% azul + 50% vermelho (L4); 50% branco + 25% azul + 25% vermelho (L5); 75% azul + 25% vermelho (L6); 75% vermelho + 25% azul (L7) e lâmpada branca fluorescente (L8), aos 90 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

A utilização dos espectros de luz L3, L4, L5 e L8 proporcionaram protocormos visualmente maiores no estágio 1. No entanto para plântulas em estágio 2 e 3, o tamanho pouco variou entre os tratamentos, enquanto que em estágio 4, a utilização de L3 e L8 promoveu plântulas visualmente maiores em relação aos outros espectros de luz. Essas observações visuais permitem inferir que a utilização de L3 e L8 é apropriada para o crescimento e desenvolvimento inicial de *C. nobilior* (Figura 5).

Ao observar a Figura 6, pode-se notar que para *C. walkeriana*, todos os propágulos apresentaram menor tamanho, independente do estágio de desenvolvimento ou do espectro de luz utilizado, quando comparados com os propágulos de *C. nobilior* (Figura 5). Ainda assim, os espectros de luz utilizados influenciaram no tamanho dos propágulos de *C. walkeriana* que, aos 90 dias após a semeadura, apresentavam-se em todos os estágios de desenvolvimento em todos os tratamentos.

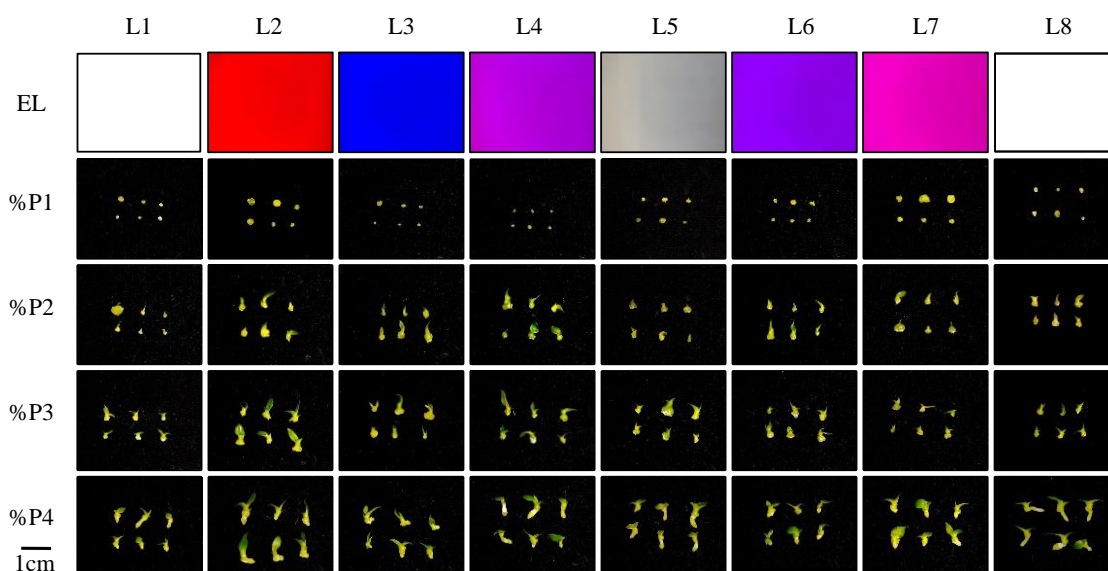


FIGURA 6. Protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), em estágio 3 (%P3) e estágio 4 (%P4) de *Cattleya walkeriana* Gardner, em função do espectro de luz (EL): 100% branco (L1); 100% vermelho (L2); 100% azul (L3); 50% azul + 50% vermelho (L4); 50% branco + 25% azul + 25% vermelho (L5); 75% azul + 25% vermelho (L6); 75% vermelho + 25% azul (L7) e lâmpada branca fluorescente (L8), aos 90 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

Para protocormos em estágio 1, os espectros de luz L2 e L7 proporcionaram, visualmente, maior tamanho em relação às demais. Plântulas em estágio 2 e 3 pouco variaram de tamanho nos diferentes tratamentos. Os mesmos espectros de luz que propiciaram maior tamanho de propágulos em estágio 1, também apresentaram esse efeito nas plântulas em estágio 4. Essas observações permitem inferir que a utilização de L2 e L7 é apropriada para o crescimento e desenvolvimento inicial de *C. walkeriana* (Figura 6).

Foi observado efeito do espectro de luz ($p < 0,05$) sobre o tamanho dos protocormos em estágio 1 (P1), plântulas em estágio 3 (P3) e estágio 4 (P4) para *C. nobilior*. Já para *C. walkeriana*, houve efeito do espectro de luz ($p < 0,05$) para todas as características avaliadas (Quadro 7).

QUADRO 7. Resumo da análise de variância do tamanho (mm) dos protocormos em estágio 1 (P1), plântulas em estágio 2 (P2), em estágio 3 (P3) e estágio 4 (P4) de *Cattleya nobilior* Rchb.f., e *Cattleya walkeriana* Gardner, aos 90 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

<i>Cattleya nobilior</i> Rchb.f.					
FV	GLQuadrado médio.....			
		P1	P2	P3	P4
EL	7	2,93*	2,40 ^{ns}	8,43*	13,72*
Total	47	35,19	81,57	118,49	142,40
Média		3,94	5,13	5,69	8,31
C.V. (%)		5,59	10,44	8,75	5,38
<i>Cattleya walkeriana</i> Gardner					
EV	GLQuadrado médio.....			
		P1	P2	P3	P4
QL	7	1,33*	1,95*	5,47*	4,49*
Total	47	30,79	25,99	52,32	54,72
Média		1,65	3,72	3,85	5,24
C.V. (%)		11,45	5,74	6,18	6,20

FV: fator de variação; GL: grau de liberdade; EL: espectro de luz; *, ^{ns}: significativo e não significativo, pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Observou-se que a utilização dos espectros de luz L4, L3, L5 e L8 apresentaram melhores condições para o maior tamanho dos protocormos de *C. nobilior* em estágio 1, com médias de 5,03; 4,47; 4,31 e 4,27 mm, respectivamente. Já as plântulas em estágio 2 apresentaram maior tamanho quando cultivados em L5 (5,89 mm), no entanto sem diferença significativa dos demais espectros de luz, com média geral de 5,13 mm (Quadro 8).

A utilização de L3, L4, L5 e L8 também proporcionaram o maior tamanho de plântulas em estágio 3, apresentando médias de 7,59; 6,83; 5,97 e 5,91 mm, respectivamente. Já os maiores valores para tamanho de plântulas em estágio 4 foram observados com o uso de L8 e L5 como espectros de luz, com médias de 10,00 e 9,98 mm, respectivamente (Quadro 8).

QUADRO 8. Tamanho (mm) dos protocormos em estágio 1 (P1), plântulas em estágio 2 (P2), em estágio 3 (P3) e estágio 4 (P4) de *Cattleya nobilior* Rchb.f., em função do espectro de luz (EL): 100% branco (L1); 100% vermelho (L2); 100% azul (L3); 50% azul + 50% vermelho (L4); 50% branco + 25% azul + 25% vermelho (L5); 75% azul + 25% vermelho (L6); 75% vermelho + 25% azul (L7) e lâmpada branca fluorescente (L8), aos 90 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

EL	P1 mm	P2 mm	P3 mm	P4 mm
L1	3,52 b	4,56 a	4,73 b	8,11 b
L2	3,11 b	4,85 a	5,38 b	8,36 b
L3	4,47 a	5,19 a	7,59 a	8,78 b
L4	5,03 a	5,83 a	6,83 a	7,70 b
L5	4,31 a	5,89 a	5,97 a	9,98 a
L6	3,05 b	4,23 a	3,78 b	5,23 c
L7	3,76 b	5,76 a	5,27 b	8,24 b
L8	4,27 a	4,77 a	5,91 a	10,00 a
Média	3,94	5,13	5,69	8,31
C.V. (%)	5,59	10,44	8,75	5,38

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

De maneira geral, novamente, os propágulos da espécie *C. walkeriana* apresentaram tamanho reduzido em relação aos propágulos de *C. nobilior*, independentemente dos espectros de luz empregados.

A utilização de L1, L2, L7 e L5 proporcionaram melhores condições para o crescimento dos protocormos em estágio 1, apresentando médias de 5,03; 4,47; 4,31 e 4,27 mm, respectivamente. Os maiores tamanhos de plântulas em estágio 2 foram observados em L6, L4, L2, L7 e L5 com médias de 4,38; 4,34; 4,10; 3,86 e 3,73 mm, respectivamente. Já em relação a plântulas em estágio 3 e 4, somente L2 proporcionou condições para o maior tamanho desses propágulos, com valores médios de 5,49 e 7,17 mm, respectivamente (Quadro 9).

QUADRO 9. Tamanho dos protocormos em estágio 1 (P1 mm), plântulas em estágio 2 (P2 mm), em estágio 3 (P3 mm) e estágio 4 (P4 mm) de *Cattleya walkeriana* Gardner, em função do espectro de luz (EL): 100% branco (L1); 100% vermelho (L2); 100% azul (L3); 50% azul + 50% vermelho (L4); 50% branco + 25% azul + 25% vermelho (L5); 75% azul + 25% vermelho (L6); 75% vermelho + 25% azul (L7) e lâmpada branca fluorescente (L8), aos 90 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

EL	P1 mm	P2 mm	P3 mm	P4 mm
L1	2,46 a	3,45 b	3,34 c	4,63 b
L2	2,00 a	4,10 a	5,49 a	7,17 a
L3	1,32 b	3,07 b	3,34 c	4,84 b
L4	1,10 b	4,34 a	4,87 b	4,45 b
L5	1,81 a	3,73 a	2,99 c	5,00 b
L6	1,14 b	4,38 a	4,48 b	5,66 b
L7	1,88 a	3,86 a	3,17 c	4,88 b
L8	1,49 b	2,83 b	3,12 c	5,33 b
Média	1,65	3,72	3,85	5,24
C.V. (%)	11,45	5,74	6,18	6,20

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

DISCUSSÃO

Germinação e desenvolvimento inicial aos 45 dias após a semeadura

Os efeitos dos espectros de luz sobre a germinação das sementes de *Cattleya* testadas foram distintos entre as espécies. Para *C. nobilior*, os espectros de luz testados não foram limitantes para a germinação das sementes, apresentando ainda baixa mortalidade de propágulos. Em contrapartida, para a *C. walkeriana*, os espectros de luz afetaram de maneira acentuada a germinação, visto que as maiores porcentagens de germinação ocorreram sob lâmpada fluorescente (L8) e nos LEDs monocromáticos vermelho, azul ou combinações entre eles, com valores próximos a 80%. Os valores de germinação obtidos para as duas espécies do gênero *Cattleya* podem ser considerados satisfatórios para espécies nativas e corroboram com os encontrados por Soares et al. (2020), que estudando a germinação de *Cattleya nobilior* Rchb.f., *Cattleya lundii* (Rchb.f. & Warm.) Van den Berg e *Brassavola tuberculata* Hook, observaram médias de %G de 98,5%, 96,6% e 62,0%, respectivamente.

A luz é um fator importante para as orquídeas cultivadas *in vitro* (HANUS-FAJERSKA e WOJCIECHOWSKA (2017), sendo que o espectro de luz proporcionado ao material propagado regula as vias bioquímicas que controlam o crescimento e a

morfogênese (TAIZ et al., 2017). Segundo Lin et al. (2011), a utilização dos LEDs vermelho, azul ou em combinações, pode promover maior germinação e brotações em plântulas. Os comprimentos de onda da lâmpada branca fluorescente, de modo geral, promovem o crescimento foliar e acúmulo de carboidratos, contribuindo para o estabelecimento inicial dessas plântulas, porém, nessa fonte de luz 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 (FARIA et al., 2012; HUNG et al., 2016; HANUS-FAJERSKA e WOJCIECHOWSKA, 2017). Além disso, nessa fonte de luz, dependendo da espécie, o fornecimento de energia (ATP) e o potencial redutor (NADPH), excedem a demanda do metabolismo vegetal no processo de fixação de carbono (GU et al. 2017), podendo assim acumular espécies reativas de oxigênio (ROS), o que dependendo do acumulado pode agir como um sinal para induzir respostas de defesa (em baixas concentrações) ou sendo tóxica em altas concentrações induzindo a peroxidação lipídica nas membranas celulares, causando danos oxidativos aos componentes celulares (VRANOVÁ et al., 2002; BAYAT et al., 2018). Sendo assim, estudos vem sendo desenvolvidos para encontrar as melhores combinações entre os espectros de luz no desenvolvimento de plantas, principalmente nativas (GU et al., 2012; GUPTA e JATOTHU, 2013; MITCHELL et al., 2015; GUPTA, 2017).

Como o intuito da semeadura *in vitro* é produzir o maior número de plântulas possível em menor período de tempo, as melhores respostas observadas para a formação de plântulas de *C. nobilior* em estágio 3 aos 45 dias da semeadura, ocorreu com a utilização dos espectros de luz tanto branca fluorescente quanto o LED vermelho em combinação com azul. Para *C. walkeriana*, o uso de lâmpada fluorescente, LED monocromático vermelho e em combinações com branco e azul, proporcionaram melhores condições para a formação de plântulas em estágio 3 aos 45 dias da semeadura. Para essa espécie, tanto a germinação como o desenvolvimento inicial foram influenciados positivamente pela lâmpada branca fluorescente e pelo LED monocromático vermelho. Esses resultados podem ser justificados, pelos espectros de luz específicas terem efeitos precisos nas plantas, como por exemplo, as monocromáticas azul e vermelha possuem comprimentos de onda com maior eficácia durante a fotossíntese (YANG et al., 2017).

Ainda, o comprimento de onda vermelho desempenha um papel importante no controle das funções do cloroplasto, e do sistema reprodutivo (REHMAN et al., 2017).

Já a luz azul influencia no crescimento da planta, expansão foliar, fotomorfogênese, abertura estomática, fotossíntese e acúmulo de pigmento (SAVVIDES et al., 2012). Porém, é sabido que as plantas quando cultivadas sob luz azul têm maior condutância estomática, maior atividade do fotossistema e capacidade de transporte de elétrons fotossintéticos e níveis mais elevados de ribose-1, 5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) do que aquelas plantas cultivadas sob luz vermelha (MUNEER et al., 2014; YANG et al., 2018). Dessa forma, existe a necessidade de ajuste espectral entre esses dois comprimentos de onda, o que pode influenciar no desenvolvimento da planta (LI et al., 2020).

Além disso, o uso dos LEDs possuem vantagens em relação as lâmpadas fluorescentes, como, longo período de vida útil, alta eficiência no processo de geração de luz e baixa emissão de calor, consumindo menos energia em salas de crescimento (GUPTA e JATOTHU, 2013; GUPTA, 2017).

A simples exposição do órgão vegetal a luz vermelha, azul ou combinações entre elas podem acarretar na organogênese que conseqüentemente favorece na formação de brotos e raízes (GEORGE e JATOTHU, 2013; GUPTA, 2017). Dessa forma, é possível manejar o cultivo *indoor* substituindo o uso de reguladores vegetais pelos diferentes comprimentos de onda proporcionados por lâmpadas LED, proporcionando o desenvolvimento inicial de protocormos (BAE et al., 2014).

A luz branca fluorescente contém todos os comprimentos de onda necessários para ganhos energéticos pela fotossíntese e outros processos fisiológicos, porém os LEDs são uma das únicas fontes luminosas que proporcionam a flexibilidade da composição espectral, podendo dessa forma regular e controlar os aspectos fisiológicos da planta, tais como a fotossíntese e fotomorfogênese, auxiliando assim no crescimento (ANTONOPOULOU et al., 2004; SINGH et al., 2015), tal como observado para *Cattleya nobilior* Rchb.f (FREITAS et al., 2019) e *Schomburgkia crispa* Lindl. (SORGATO et al., 2021).

Hung et al. (2016) e Taiz et al. (2017) salientam ainda que a influência da qualidade da luz sobre o crescimento e o desenvolvimento de plantas está fortemente associada à espécie vegetal. Sendo assim, de acordo com os resultados obtidos neste trabalho, é crucial ajustar a composição espectral dos espectros de luz para cada espécie estudada, visto que ainda são escassas as pesquisas com plantas nativas (HANUS-FAJERSKA e WOJCIECHOWSKA, 2017; SORGATO et al., 2021), principalmente da família Orchidaceae.

É importante salientar ainda que, aos 45 dias de cultivo *in vitro*, a espécie *C. walkeriana* teve desenvolvimento mais lento e maior mortalidade de propágulos do que *C. nobilior*, o que evidencia a menor rusticidade da espécie, que tem menos informações científicas sobre seu cultivo e, além disso é considerada vulnerável (CNCFLORA, 2021b) na avaliação do risco de extinção.

Desenvolvimento inicial aos 90 dias após a semeadura

A utilização da combinação de LEDs branco, azul, vermelho, assim como da lâmpada fluorescente, proporcionaram propágulos de maior tamanho em estágio 4 de *C. nobilior* e melhores condições para a maior porcentagem de plântulas aos 90 dias após a semeadura. Embora sem diferença estatística, o LED monocromático vermelho apresentou propágulos de maior tamanho em estágio 4 e melhores condições para a maior %P4 de *C. walkeriana*.

Li et al. (2010) trabalhando com plantas de algodão e utilizando LEDs vermelho e azul relatam que suas combinações podem influenciar positivamente no crescimento das plantas, com posterior aumento de massa fresca em relação à utilização aos LEDs monocromáticos, pois em seu trabalho, a combinação 1:1, foi prontamente absorvidas pelas plantas fornecendo um espectro de luz eficiente para fotossíntese e fotomorfogênese. Os autores ainda salientam que a proporção ideal de luz vermelha para luz azul difere entre as espécies de plantas e cultivares sob condições de cultura de tecido vegetal.

Zhu et al. (2019) também explicam que plantas submetidas ao espectro visível do vermelho monocromático, pode induzir o aumento de protoplastos, balanço de carbono, biossíntese de fitohormônios e na abertura estomática em folhas, porém para este último, os autores explicam que não se sabe, até que ponto a abertura estomática, induzida pela luz vermelha, surge da detecção direta da luz vermelha por células guardiãs versus respostas indiretas como resultado das influências da luz vermelha na fotossíntese do mesófilo. Assim, as plantas precisam não somente da luz vermelha monocromática, mas também do azul para regular outros tipos de respostas além da fotossíntese e produção de biomassa (CASAL, 2006; WHITELAM e HALLIDAY, 2007). Os fatos relacionados por esses autores podem explicar os resultados apresentados neste trabalho, onde esses comprimentos de ondas aceleraram o desenvolvimento de plântulas até o estágio 4.

Além disso, observamos visualmente a variação de tamanho dos propágulos entre *C. nobilior* e *C. walkeriana*, independente do estágio de desenvolvimento. A partir desses resultados pode-se inferir que a espécie de *C. walkeriana* possui um desenvolvimento mais lento em relação à *C. nobilior*. Para Godo et al. (2009), os efeitos inibitórios ou promocionais da luz na germinação e desenvolvimento inicial de protocormos e plântulas são traços intrínsecos de cada espécie. Hanus-Fajerska e Wojciechowska (2017) salientam que existem três grandezas físicas da luz que mais influenciam no crescimento *in vitro* e na morfogênese que são: a duração da exposição à luz (fotoperíodo), a densidade de fluxo e o comprimento de onda.

Estes resultados permitem inferir que os estudos sobre a germinação e desenvolvimento inicial de protocormos e plântulas das orquídeas são importantes, uma vez que, por meio deles é possível conhecer não somente a espécie, como também a sua interação com o ambiente no qual será cultivada, considerando que não existe um padrão de comportamento para essa família botânica na literatura científica. Esse fato evidencia que os protocolos de germinação e estabelecimento inicial *in vitro* para família Orchidaceae precisam ser espécie específicos.

CONCLUSÃO

Os espectros de luz testadas não foram limitantes para a germinação das sementes *C. nobilior*. Em contrapartida, para a *C. walkeriana* as maiores porcentagens de germinação ocorreram em lâmpada fluorescente e nos LEDs monocromáticos vermelho e azul ou combinações entre eles.

A combinação entre os LEDs branco, azul e vermelho proporcionam melhores condições para o desenvolvimento inicial de *C. nobilior*. Enquanto para *C. walkeriana*, foi influenciado positivamente pelo LED monocromático vermelho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, A.; GUPTA, S. D. Impact of light-emitting diodes (Leds) and its potencial on plant growth and development in controlled-environment plant production system. **Current Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 28-43, 2016.

ANTONOPOULOU, C.; DIMASSI, K.; THERIOS, I.; CHATZISSAVVIDIS, C. The influence of radiation quality on the *in vitro* rooting and nutrient of peach rootstock. **Biologia Plantarum**, v. 48, n. 4, p. 549-553, 2004.

BAE, K. H.; OH, K. H.; KIM, S. Y. Sodium hypochlorite treatment and light-emitting diode (LED) irradiation effect on *in vitro* germination of *Oreorchis patens* (Lindl.). **Journal of Plant Biotechnology**, v. 41, n. 1, p. 44-49, 2014.

BATALINI, C.; STOCCO, L. O.; FERNANDES, R. T. S.; MARQUES JUNIOR, J. Avaliações fitoquímicas, fitotóxica e antifúngica da entrecasca do caule de *Pterodon pubescens* Benth (sucupira branca). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 77589-77607, 2020.

BATISTA, D. S.; FELIPE, S. H. S.; SILVA, T. D.; CASTRO, K. M.; MAMEDES-RODRIGUES, T. C.; MIRANDA, N. A.; RÍOS-RÍOS, A. M.; FARIA, D. V.; FORTINI, E. A.; CHAGAS, K.; TORRES-SILVA, G.; XAVIER, A.; ARENCIBIA, A. D.; OTONI, W. C. Light quality in plant tissue culture: does it matter? **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 54, n. 3, p. 195-215, 2018.

BAYAT, L.; ARAB, M.; ALINIAEIFARD, S.; SEIF, M.; LASTOCHKINA, O.; LI, T. Effects of growth under different light spectra on the subsequent high light tolerance in rose plants. **AoBP Plants**, v. 10, n. 5, p. 01-17, 2018.

BUDIARTO, K. Spectral quality affects morphogenesis on Anthurium plantlet during *in vitro* culture. **Agrivita**, v. 32, n. 1, p. 234-240, 2010.

CARDOSO, J. C. *Ionocidium* ‘cerrado 101’: intergeneric orchid hybrid with high quality of blooming. **Ornamental Horticulture**, v. 23, n. 1, p. 351-356, 2017.

CASAL, J. J. A rede de interação de fotorreceptores. In: SCHAFER, E.; NAGY, F. (ed) Fotomorfogênese em plantas e bactérias: Função e mecanismos de transdução de sinal. **Springer**, 2006. 407-437 p.

CNCFLORA. *Cattleya walkeriana* in **Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012**. Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Cattleyawalkeriana>. Acesso em: 23 janeiro 2021a.

CNCFLORA. **Lista Vermelha 2020**. Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/listavermelha/ORCHIDACEAE>. Acesso em: 15 janeiro 2021b.

FAJARDO, C. G.; VIEIRA, F. A.; FELIX, L. P.; MOLINA, W. F. Negligence in the Atlantic forest, northern Brazil: a case study of an endangered orchid. **Biodiversity and Conservation**, v. 26, n. 5, p. 1047-1063, 2017.

FARIA, R. T.; ASSIS, A. M.; UNEMOTO, L. K.; CARVALHO, J. F. R. P. **Produção de Orquídeas em Laboratório**. Londrina: Mecenias, 2012. 124 p.

FLORA DO BRASIL EM CONSTRUÇÃO. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acessado em: 12 janeiro 2021.

FREITAS, K. G. **Crescimento *in vitro* de *Cattleya nobilior* Rchb.f.: meios de cultura, sistema de micropropagação e irradiância**. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS, 2019.

GALE, S. W.; FISCHER, G. A.; CRIBB, P. J.; FAY, M. F. Orchid conservation: bridging the gap between science and practice. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 186, n. 4, p. 425-434, 2018.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture, part 1 - The technology**. Edington: Exegetics Limited, 1996. 1574 p.

GODO, T.; YUKAWA, T.; MIYOSHI, K. The effects of BA, illumination and temperature on asymbiotic seed germination of mature seeds of four Japanese endangered taxa of *Calanthe* (Orchidaceae). **Bull Bot Gard Toyama**, v. 14, n. 4, p. 33-40, 2009.

GU, A.; LIU, W.; MA, C.; CUI, J.; HENNY, R. J.; CHEN, J. Regeneration of *Anthurium andraeanum* from leaf explants and evaluation of microcutting rooting and growth under different light qualities. **HortScience**, v. 47, n. 1, p. 88-92, 2012.

GU, J.; ZHOU, Z.; LI, Z.; CHEN, Y.; WANG, Z.; ZHANG, H.; YANG, J. Photosynthetic properties and potentials for improvement of photosynthesis in pale green leaf rice under high light conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 20, n. 1, p. 01-14, 2017.

GUPTA, S. D. **Light emitting diodes for agriculture**. Singapore: Springer, 2017. 334 p.

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. 1, p. 211-220, 2013.

HANUS-FAJERSKA, E.; WOJCIECHOWSKA, R. Impact of Light-Emitting Diodes (LEDs) on propagation of orchids in tissue culture. In: GUPTA, S. D. (ed) **Light Emitting Diodes for Agriculture**. Springer, 2017. 305-320 p.

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. 1, p. 152, 2016.

LI, H.; XU, Z.; TANG, C. Effect of light-emitting diodes on growth and morphogenesis of pland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plantlets *in vitro*. **Plant Cell Tissue Organ Cult**, v. 103, n. 1, p. 155-163, 2010.

LI, Y.; XIN, G.; LIU, C.; SHI, Q.; YANG, F.; WEI, M. Effects of red and blue light on leaf anatomy, CO₂ assimilation and the photosynthetic electron transport capacity of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings. **Plant Biology**, v. 20, n. 318, p. 01-16, 2020.

LIN, K. H.; HUANG, M. Y.; HUANG, W. D.; HSU, M. H.; YANG, Z. W.; YANG, C. M. The effects of red, blue, and white light-emitting diodes on the growth, development, and edible quality of hydroponically grown lettuce (*Lactuca sativa* L. var. capitata). **Scientia Horticulturae**, v. 150, n. 1, p. 86-91, 2013.

LIN, Y.; LI, J.; LI, B.; HE, T.; CHUN, Z. Effects of light quality on growth and development of protocorm-like bodies of *Dendrobium officinale* *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 105, n. 3, p. 329-335, 2011.

MA, G.; ZHANG, L.; SETIAWAN, C. K.; YAMAWAKI, K.; ASAI, T.; NISHIKAWA, F.; MAEZAWA, S.; SATO, H.; KANEMITSU, N.; KATO, M. Effect of red and blue LED light irradiation on ascorbate content and expression of genes related to ascorbate metabolism in postharvest broccoli. **Postharvest Biology and Technology**, v. 94, n. 1, p. 97-103, 2014.

MITCHELL, C. A.; DZAKOVICH, M. P.; GOMEZ, C.; LOPEZ, R.; BURR, J. F.; HERNÁNDEZ, R.; KUBOTA, C.; CURREY, C. J.; MENG, Q.; RUNKLE, E. S.; BOURGET, C. M.; MORROW, R. C.; BOTH, A. J. Light-emitting diodes in horticulture. In: JANICK, J. (ed) Horticultural reviews. **John Wiley & Sons**, 2015. 01-88 p.

MUNEER, S.; KIM, E. J.; PARK, J. S.; LEE, J. H. Influence of green, red and blue light emitting diodes on multiprotein complex proteins and photosynthetic activity under different light intensities in lettuce leaves (*Lactuca sativa* L.). **International Journal of Molecular Science**, v. 15, n. 3, p. 4657-4670, 2014.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiology Plantarum**, v. 15, n. 1, p. 473-497, 1962.

PINHEIRO, M. V. M.; SCHMIDT, D.; DIEL, M. I.; SANTOS, J.; THIESEN, L. A.; AZEVEDO, G. C. V.; HOLZ, E. *In vitro* propagation of alpinia cultivars in different light sources. **Ornamental Horticulture**, v. 25, n. 1, p. 49-54, 2019.

REHMAN, M.; ULLAH, S.; BAO, Y.; WANG, B.; PENG, D.; LIU, L. Light-emitting diodes: whether an efficient source of light for indoor plants? **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 24, n. 32, p. 24743-247452, 2017.

RIBEIRO, L. M.; SORGATO, J. C.; SCALON, S. P. Q.; SOARES, J. S.; RIBEIRO, I. S. Influência da luz, ventilação natural e tamanho do frasco no crescimento e

desenvolvimento de denphal (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 14, n. 3, p. e5957, 2019.

SAVVIDES, A.; FANOURAKIS, D.; VAN IEPEREN, W. Co-ordination of hydraulic and stomatal conductances across light qualities in cucumber leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 3, p. 1135-1143, 2012.

SILVA, J. A. T.; CARDOSO, J. C.; DOBRÁNSZKI, J.; ZENG, S. *Dendrobium* micropropagation: a review. **Plant cell reports**, v. 34, n. 5, p. 671-704, 2015.

SINGH, D.; BASU, C.; MEINHARDT-WOLLWEBER, M.; ROTH, B. LEDs for energy efficient greenhouse lighting. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 49, n. 1, 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. 275-284, 2014.

SOARES, J. S.; SORGATO, J. C.; RIBEIRO, L. M. Protocolo para germinação assimbiótica e desenvolvimento inicial de protocormos de orquídeas nativas do Cerrado brasileiro. **Revista Rodriguésia**, v. 71, n. 1, p. e01332018, 2020.

SORGATO, J. C.; MUDOLON, E. D.; GUIMARÃES, F. F.; SOARES, J. S.; RIBEIRO, L. M. Light sources on the germination and initial *in vitro* establishment of *Schomburgkia crispa* Lindl., a species of the Brazilian Cerrado. **Ciência Rural**, v. 51, n. 3, p. e20190022, 2021.

SORGATO, J. C.; SOARES, J. S.; SCALON, S. P. Q.; PEREIRA, S. T. S.; BROTTTO, D. F.; RIBEIRO, L. M. Does soaking time during disinfestation affect germination rates in *Dendrobium*?. **Bioscience Journal**, v. 36, n. 1, p. 42-50, 2020.

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**. Porto Alegre: Artmed, 2017. 918 p.

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.

THE PLANT LIST. **A working list of all plant species**. Disponível em: <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Orchidaceae/>. Acesso em: 21 janeiro 2021.

VRANOVÁ, E.; INZÉ, D.; VAN BREUSEGEM, F. Signal transduction during oxidative stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 1, p. 1227-1236, 2002.

YANG, X.; XU, H.; SHAO, L.; WANG, R.; LI, T.; WANG, Y. Response of photosynthetic capacity of tomato leaves to different LED light wavelength. **Environmental and Experimental Botany**, v. 150, n. 1, p. 161-171, 2018.

YANG, Z.; HE, W.; MOU, S.; WANG, X.; CHEN, D.; HU, X.; CHEN, L.; BAI, J. Plant growth and development of pepper seedlings under different photoperiods and photon flux ratios of red and blue LEDs. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, v.33, n. 17, p. 173-180, 2017.

WHITELAM, G.; HALLIDAY, K. **Light and plant development**. Oxford: Blackwell Publishing, 2007. 344 p.

ZHA, L.; LIU, W.; YANG, Q.; ZHANG, Y.; ZHOU, C.; SHAO, M. Regulation of ascorbate accumulation and metabolism in lettuce by the red:blue ratio of continuous light using LEDs. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. 1, p. 01-13, 2020.

ZHANG, L.; MA, G.; YAMAWAKI, K.; IKOMA, Y.; MATSUMOTO, H.; YOSHIOKA, T.; OHTA, S.; KATO, M. Regulation of ascorbic acid metabolism by blue LED light irradiation in citrus juice sacs. **Plant Science**, v. 233, n. 1, p. 134-142, 2015.

ZHU, M.; GENG, S.; CHAKRAVORTY, D.; GUAN, Q.; CHEN, S.; ASSMANN, S. M. Metabolomics of red-light-induced stomatal opening in *Arabidopsis thaliana*: Coupling with abscisic acid and jasmonic acid metabolism. **The Plant Journal**, v. 101, n. 6, p. 1331-1348, 2019.

**CAPÍTULO III - GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO
INICIAL *IN VITRO* DE ORQUÍDEAS DO GÊNERO *Cattleya*
NATIVAS DO CERRADO BRASILEIRO EM FUNÇÃO DE FONTES
DE LUZ NATURAL E ARTIFICIAL**

RESUMO

A luz é um fator de destaque na condução e manejo de plantas em sistemas de produção. Para o cultivo *in vitro*, o entendimento dos efeitos da luz natural e artificial sobre a germinação e morfogênese é importante para preencher lacunas no conhecimento sobre a produção de orquídeas, em especial, as nativas do Cerrado. Objetivou-se avaliar a germinação e desenvolvimento inicial *in vitro* de orquídeas do gênero *Cattleya* nativas do Cerrado brasileiro em função de fontes de luz natural e artificial. Os frascos após serem inoculados, foram acondicionados em sala de crescimento sob as seguintes fontes de luz natural e artificial - L1: LED amarelo 3.000K ($128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L2: LED branco 6.500K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L3: lâmpada branca fluorescente 6.500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e L4: luz natural - $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Decorridos 45 e 90 dias após a semeadura, avaliou-se a porcentagem de germinação (%G) e o estabelecimento inicial dos propágulos. Os propágulos foram avaliados quanto à sua porcentagem em estágio 1 (%P1), 2 (%P2), 3 (%P3) e 4 (%P4). De maneira geral, as fontes de luz não influenciaram a germinação de *Cattleya nobilior* Lindl., no entanto foram limitantes para a germinação de *Cattleya walkeriana* Gardner. A utilização do L3 proporcionou estabelecimento inicial em *C. nobilior* em menor período de tempo e com menor mortalidade das plântulas aos 90 dias após semeadura, no entanto para *C. walkeriana* observou-se melhor estabelecimento inicial de plântulas em menor período de tempo com a utilização do L3, L1 e L4. A luz natural não forneceu as melhores condições para o melhor estabelecimento inicial de ambas as espécies. Sendo assim, recomenda-se a utilização de fontes de luz artificial nas duas espécies estudadas.

Palavras-chave: Espécie nativa, Horticultura ornamental, LEDs, Orchidaceae.

**GERMINATION AND INITIAL *IN VITRO* DEVELOPMENT OF
Cattleya GENDER ORCHIDS NATIVE OF THE BRAZILIAN
CERRADO IN FUNCTION OF SOURCES OF NATURAL AND
ARTIFICIAL LIGHT**

ABSTRACT

Light is a prominent factor in the conduction and management of plants in production systems. For *in vitro* cultivation, understanding the effects of natural and artificial light on germination and morphogenesis is important to fill gaps in knowledge about the production of orchids, especially those native to the Cerrado. The aim of this study was to evaluate the *in vitro* germination and initial development of orchids of the genus *Cattleya* native to the Brazilian Cerrado under natural and artificial light sources. After inoculation, the flasks were placed in a growth room under the following natural and artificial light sources - L1: 3,000K yellow LED ($128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L2: 6,500K white LED ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L3: 6,500K white fluorescent lamp ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and L4: natural light - $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. After 45 and 90 days after sowing, the germination percentage (%G) and the initial establishment of the propagules were evaluated. The propagules were evaluated for their percentage in stage 1 (%P1), 2 (%P2), 3 (%P3) and 4 (%P4). In general, light sources did not influence *Cattleya nobilior* Lindl. germination, however they were limiting for *Cattleya walkeriana* Gardner germination. The use of L3 provided initial establishment in *C. nobilior* in a shorter period of time and with lower seedling mortality at 90 days after sowing, however for *C. walkeriana* there was better initial establishment of seedlings in a shorter period of time with the use of L3, L1 and L4. Natural light did not provide the best conditions for the best initial establishment of both species. Therefore, it is recommended to use artificial light sources in the two studied species.

Keywords: Native species, Ornamental horticulture, LEDs, Orchidaceae.

INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae é uma das maiores e mais representativas famílias dentre as Angiospermas (THE PLANT LIST, 2021). De acordo com a Flora do Brasil em construção (2021), lista 642 espécies distribuídas em 113 gêneros dentro da composição florística do Cerrado brasileiro, sendo que na região Centro-Oeste existem 106 gêneros, distribuídos em 507 espécies e no Mato Grosso do Sul são encontradas 92 espécies pertencentes a 38 gêneros.

As espécies de orquídeas nativas possuem elevado potencial ornamental, o que as torna muito visadas. Esse fato faz com que a extração dessas espécies seja um dos principais fatores para a diminuição das populações no Cerrado (CARDOSO, 2017).

Dentre as espécies do gênero *Cattleya*, destacam-se a *Cattleya nobilior* Rchb.f., que possui hábito epifítico ou rupícola, com distribuição nas regiões Norte, Nordeste e Centro Oeste e a *Cattleya walkeriana* Gardner, que também possui hábito epifítico ou rupícola, e sua distribuição ocorre nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste (FLORA DO BRASIL EM CONSTRUÇÃO, 2021).

Essas plantas apresentam pseudobulbos ovalados ou fusiformes e podem medir de 5 a 12 cm de comprimento com presença de duas folhas para *C. nobilior* ou uma folha para *C. walkeriana*, as flores de ambas as espécies são de coloração entre rosa escuro/rosa claro a claro/lilás (ARAÚJO, 2017). De acordo com o Centro Nacional de Conservação da Flora essas espécies estão classificadas como: quase ameaçada e vulnerável, respectivamente, além de ser considerada endêmica para a *C. walkeriana* (CNCFLORA, 2021).

Essas orquídeas possuem crescimento lento, o que torna demorada a produção de novas mudas, necessitando de um longo período até que atinjam o estágio reprodutivo. Nesse sentido, a sementeira *in vitro* é uma ferramenta biotecnológica muito útil, pois possibilita a conservação de espécies por meio da obtenção de plantas em grande escala e em tempo relativamente curto e com alta qualidade o que contribui para diminuição do risco de extinção (CARDOSO, 2014; HANUS-FAJERSKA e WOJCIECHOWSKA, 2017; FAY, 2018).

Com o cultivo *in vitro* a germinação e o estabelecimento inicial do material propagado são influenciados por diversos fatores abióticos, destacando-se a fonte de luz, natural ou artificial que é fornecida durante essa fase, 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).

A fonte de luz utilizada em ambientes *indoor* geralmente é a lâmpada fluorescente branca de amplo espectro (350 - 750 nm) e irradiância em torno de 20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (KITSINELIS, 2011). No entanto, as lâmpadas de LED (*Light-Emitting Diode*) vem sendo utilizadas como alternativa a iluminação convencional, demonstrado através de pesquisas que podem ser utilizadas como fonte de luz artificial para a cultura de tecidos de plantas, obtendo resultados satisfatórios (GUPTA, 2017), 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 e da irradiância 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 e JATOTHU, 2013).

Outra alternativa para o cultivo *in vitro* é a produção de plântulas 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 et al, 2012; SORGATO et al., 2021).

Esse tipo de luz possui um papel importante no crescimento da planta, atribuído pela presença de luz azul que pode influenciar na expansão foliar, abertura estomática, fotossíntese e no acúmulo de pigmento, além de reverter positivamente algumas alterações fisiológicas de plantas que tenham sido cultivadas em ambiente *indoor* (OUZOUNIS et al., 2015).

Assim, foram testadas as hipóteses: 1. No cultivo *in vitro* a luz natural e artificial atua de modo distinto nas respostas germinativas e de desenvolvimento inicial em orquídeas do gênero *Cattleya*; 2. As respostas são espécie-específicas. Dessa forma, objetivou-se avaliar a germinação e o desenvolvimento inicial *in vitro* de *C. nobilior* e *C. walkeriana* em função da fonte de luz natural e artificial, como contribuição ao manejo e produção de orquídeas do gênero *Cattleya* nativas do Cerrado brasileiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultivo *in vitro* da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Foi utilizado como material de estudo, sementes de *Cattleya nobilior* Rchb.f. oriundas de reserva particular de patrimônio natural (S 21°29'31" e W 56°24'11") e *Cattleya walkeriana* Gardner, doadas pelo pesquisador Dr. Renato F. Galdiano Júnior.

Pesou-se 0,005 g de sementes de cada espécie para avaliação da viabilidade pelo teste de tetrazólio (SOARES et al., 2014) e, após a confirmação da viabilidade, foram acondicionadas em dessecador com sílica gel (25 ± 2 °C; 75% UR) por 14 dias.

Para a germinação das sementes e desenvolvimento inicial dos protocormos e plântulas, utilizou-se 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 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 com tampa rosqueável com capacidade de 600 mL, sendo que cada frasco recebeu 60 mL do referido meio de cultivo. Na sequência, os frascos foram esterilizados em autoclave a 121 °C e 1,1 atm de pressão, por 20 minutos. Após o resfriamento (25 ± 2 °C) os frascos foram transferidos para ambiente estéril.

Posteriormente, foram pesadas 0,005 g de sementes de cada espécie, sendo levadas para ambiente asséptico e desinfestadas conforme metodologia descrita por Soares et al. (2020). Na sequência, a suspensão de sementes foi diluída para 50 mL com água destilada estéril e em seguida recebeu tríplice lavagem com água destilada estéril (40 mL por lavagem), sendo a água descartada após cada lavagem. Após este procedimento, o volume da suspensão foi completado para 50 mL com água destilada estéril para a semeadura *in vitro*, sendo inoculados 1.000 μL da suspensão de sementes por frasco.

Após a inoculação, os frascos foram vedados com filme plástico de policloreto de vinila (filme PVC) e um conjunto de cinco frascos foram levados para condição de viveiro telado com sobreposição de duas telas de sombreamento de 50% sob a seguinte condição de luz natural - L4: luz natural - média de $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, sob condições médias de temperatura e umidade relativa de $22,6\pm 5$ °C e $73,9\pm 10\%$, respectivamente. E os outros frascos foram acondicionados em sala de crescimento com temperatura e fotoperíodo controlados (25 ± 2 °C; 16 h) sob as seguintes fontes de luz artificial – L1:

LED amarelo 3.000K ($128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L2: LED branco 6.500K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e L3: lâmpada branca fluorescente 6.500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Figura 1).

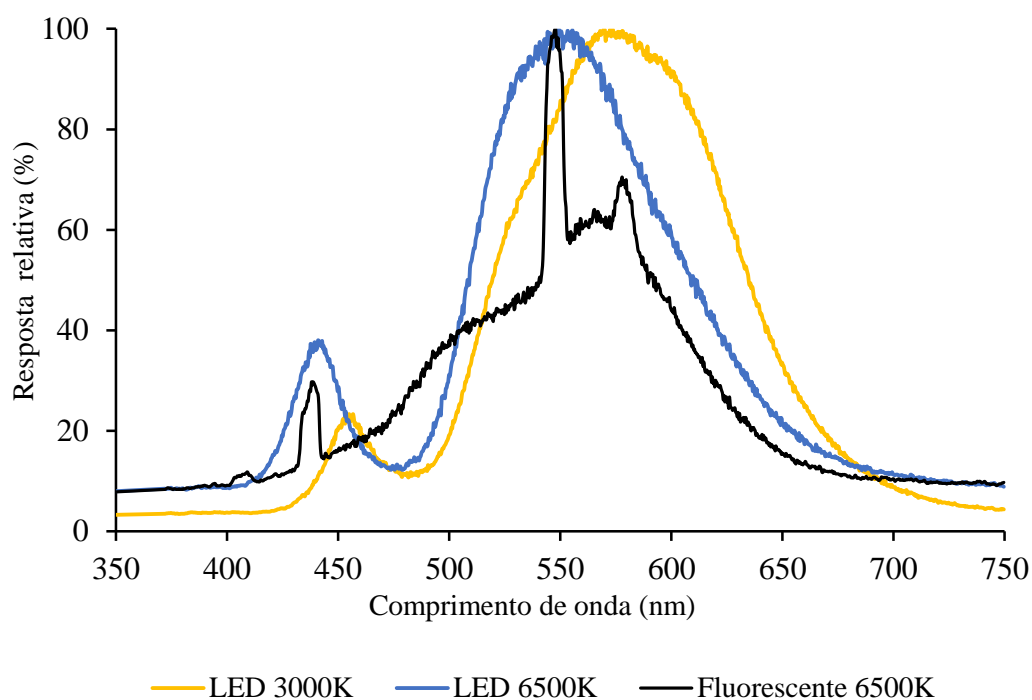


FIGURA 1. Distribuição espectral de energia relacionada às diferentes fontes de luz. UFGD, Dourados/MS, 2021.

Quarenta e cinco dias após a semeadura, foi avaliada a porcentagem de germinação de cada espécie. Os materiais contidos nos frascos foram lavados com água destilada estéril e acondicionados em placas de acrílico ($2,0 \times 2,0 \times 0,5$ cm), quadriculadas ($0,5 \times 0,5$ cm). Este procedimento foi repetido até não restar nenhuma semente ou propágulo no frasco de cultivo. Com auxílio de microscópio estereoscópico binocular com zoom foram contados o número de sementes não germinadas (NS) e o número de propágulos clorofilados (NPC). A porcentagem de germinação (%G) foi calculada pela seguinte expressão: $\%G = [\text{NPC} / (\text{NS} + \text{NPC})] \times 100$.

As avaliações do estabelecimento inicial foram realizadas aos 45 e 90 dias após a semeadura, quanto a porcentagem de protocormos em estágio 1 (%P1), 2 (%P2), 3 (%P3) e 4 (%P4). Para a avaliação dos estágios de protocormos, foi considerado como estágio 1 (protocormos intumescido), estágio 2 (plântula com formação da primeira folha), estágio 3 (plântula com duas folhas) e estágio 4 (plântula com folhas e uma ou mais raízes) (SUZUKI et al., 2009) (Figura 2).

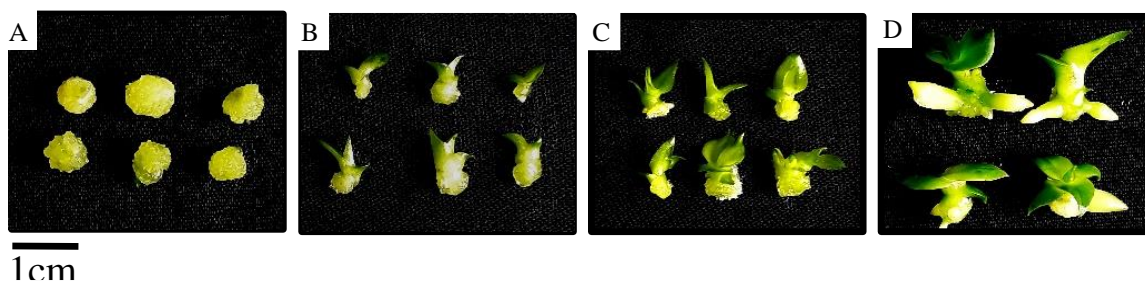


FIGURA 2. Morfologia geral dos estádios de desenvolvimento de protocormos e plântulas até a formação de plantas de *Cattleya nobilior* Rchb.f. A) Estádio 1 = protocormo intumescido clorofilado; B) Estádio 2 = plântula com formação da primeira folha; C) Estádio 3 = plântula com duas folhas; D) Estádio 4= plântula com folhas e uma ou mais raízes. UFGD, Dourados/MS, 2021.

Também foi mensurado (mm) o tamanho dos propágulos após 90 dias da semeadura. Após as avaliações, todos os tratamentos foram fotografados com câmera acoplada ao microscópico estereoscópico, com auxílio do programa computacional AxionVision versão 3.1 (Zeiss®).

Para cada espécie em estudo, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro tratamentos (condições de irradiância) com cinco repetições de um frasco de cultivo cada. Os resultados foram transformados para $\sqrt{(x+1)}$ e, a seguir, submetidos à análise de variância e 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).

RESULTADOS

Germinação e desenvolvimento inicial aos 45 dias após a semeadura

Houve efeito das fontes de luz ($p < 0,05$) sobre a porcentagem de protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), em estágio 3 (%P3) e de protocormos não clorofilados (%PNC) para *C. nobilior*. Para *C. walkeriana*, ocorreu efeito das fontes de luz ($p < 0,05$) para todas as características avaliadas (Quadro 1).

QUADRO 1. Resumo da análise de variância da porcentagem de germinação (%G), protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), e em estágio 3 (%P3), de protocormos clorofilado (%PC) e não clorofilado (%PNC) de *Cattleya nobileior* Rchb.f. e *Cattleya walkeriana* Gardner, aos 45 dias após a sementeira. UFGD, Dourados/MS, 2021.

<i>Cattleya nobileior</i> Rchb.f.							
FV	GLQuadrado médio.....					
		%G	%P1	%P2	%P3	%PC	%PNC
FL	3	2,36 ^{ns}	5478,60*	4139,90*	531,76*	1591,57 ^{ns}	1591,57*
Total	15	28,83	21287,35	21405,82	2749,08	8667,11	8667,11
Média		98,67	46,82	45,41	7,32	85,78	14,22
C.V. (%)		0,71	23,54	34,22	43,57	13,57	40,00
<i>Cattleya walkeriana</i> Gardner							
FV	GLQuadrado médio.....					
		%G	%P1	%P2	%P3	%PC	%PNC
FL	3	287,58*	1533,76*	2507,04*	362,12*	901,68*	901,79*
Total	15	1085,90	6307,46	8359,36	1624,18	3573,82	3574,14
Média		83,71	81,89	18,03	6,23	81,86	18,14
C.V. (%)		2,94	7,60	18,75	45,62	5,61	21,09

FV: fator de variação; GL: grau de liberdade; FL: fontes de luz; *, ^{ns}: significativo e não significativo, pelo teste de Tukey (p<0,05).

Para *C. nobileior*, observou-se média geral de %G de 98,67. Em relação à avaliação da porcentagem de propágulos, observou-se que aos 45 dias, a maior %P1 ocorreu em L4 com 96,74%. Houve maior %P2 com a utilização do L3 com média de 74,87%, mas não diferindo estatisticamente do L1 e L2 com médias de 57,91% e 46,98%. A utilização do L1 proporcionou maior %P3 com média de 24,25%, seguido da utilização do L3 com média de 5,04%. Não foram observadas plântulas em estágio 4 aos 45 dias após sementeira. Sendo assim, pode-se inferir que o uso de lâmpadas LED amarelo 3.000K ($128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e lâmpada branca fluorescente em salas de crescimento podem promover o desenvolvimento de plântulas dessa espécie em curto período de tempo.

Com relação a mortalidade dos propágulos, L3 propiciou maior %PC com média de 100%, mas não diferindo estatisticamente do L1, L2 e L4 com médias de 99,55%, 86,12% e 57,46% respectivamente. Já o uso do L4, acarretou maior %PNC com média de 42,54%, mas não diferindo do L2 com média de 13,88%. (Quadro 2).

QUADRO 2. Porcentagem de germinação (%G), protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), e estágio 3 (%P3), de protocormos clorofilado (%PC) e não clorofilado (%PNC) de *Cattleya nobilior* Rchb.f., em função das fontes de luz (FL) - L1: LED amarelo 3.000K ($128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L2: LED branco 6.500K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L3: lâmpada branca fluorescente 6.500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e L4: luz natural ($35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), aos 45 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

FL	%G	%P1	%P2	%P3	%PC	%PNC
L1	99,66 a	17,84 b	57,91 a	24,25 a	99,55 a	0,45 b
L2	98,28 a	53,02 b	46,98 ab	0,00 c	86,12 a	13,88 ab
L3	98,83 a	20,09 b	74,87 a	5,04 b	100,00 a	0,00 b
L4	97,89 a	96,74 a	3,26 b	0,00 c	57,46 a	42,54 a
Média	98,67	46,92	45,75	7,32	85,78	14,22
C.V. (%)	0,71	23,54	34,22	43,57	13,57	40,00

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para *C. walkeriana*, a utilização do L3 proporcionou maior %G com média de 92,72%, mas não diferindo estatisticamente do L1 com média de 87,77%. Com relação aos estádios de desenvolvimento dos propágulos, o uso do L4 apresentou maior %P1 (99,99%), mas não diferindo estatisticamente do L2 com média de 99,49%. A utilização do L3 proporcionou a maior %P2 (53,36%). A maior %P3 foi observada com o uso do L1 com média de 20,09%. Não foi observado plântulas em estágio 4 aos 45 dias após a semeadura. Dessa forma, pode-se inferir que a utilização de LED amarelo 3.000K ($128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em sala de crescimento podem promover o crescimento dessa espécie em um curto período de tempo.

Com relação a mortalidade dos propágulos, a maior %PNC foi observada com o uso do L2 acarretando média de 35,01%, mas sem diferença estatística do L1 com média de 24,33% (Quadro 3). A L3 contribuiu para a maior %PC com média de 100%, mas não diferindo estatisticamente do L4 (86,79%). (Quadro 3).

QUADRO 3. Porcentagem de germinação (%G), protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), e estágio 3 (%P3), de protocormos clorofilado (%PC) e não clorofilado (%PNC) de *Cattleya walkeriana* Gardner, em função das fontes de luz (FL) - L1: LED amarelo 3.000K ($128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L2: LED branco 6.500K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L3: lâmpada branca fluorescente 6.500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e L4: luz natural ($35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), aos 45 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

FL	%G	%P1	%P2	%P3	%PC	%PNC
L1	87,77 ab	62,96 b	16,95 b	20,09 a	75,67 bc	24,33 ab
L2	73,14 c	99,49 a	0,51 c	0,00 c	64,99 c	35,01 a
L3	92,72 a	41,80 b	53,36 a	4,84 b	100,00 a	0,00 c
L4	81,22 bc	99,99 a	0,00 c	0,00 c	86,79 ab	13,22 bc
Média	83,71	76,06	17,70	6,23	81,86	18,14
C.V. (%)	2,94	7,60	18,75	45,62	5,61	21,09

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para ambas as espécies, verificamos visualmente que os protocormos e plântulas tiveram variação em seu tamanho (Figuras 1 e 2). Com a L1 e L3 os propágulos de modo geral, apresentaram tamanho maior em comparação aos outros tratamentos. Não observamos plântulas em estágio 4 aos 45 dias após semeadura. Quanto aos propágulos cultivados sob L2 e L4, apresentaram os menores tamanhos e ausência de plântulas em estágio 3 de desenvolvimento inicial (Figuras 2 e 3).

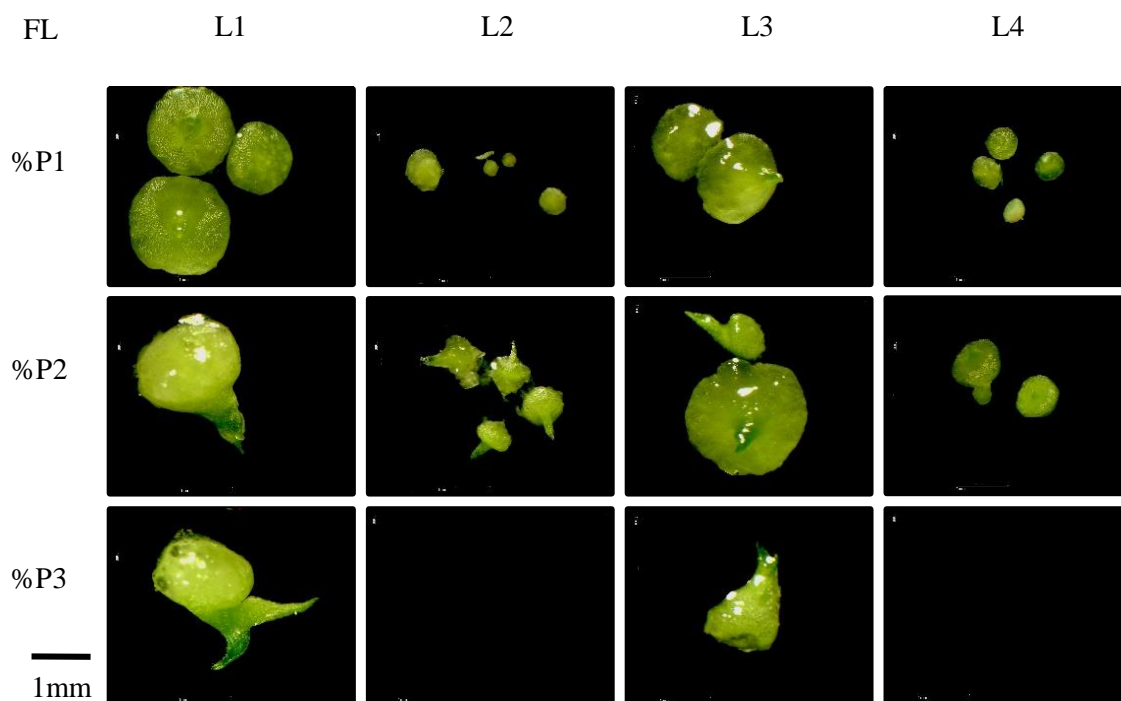


FIGURA 2. Protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2) e estágio 3 (%P3) de *Cattleya nobilior* Rchb.f., em função das fontes de luz (FL) - L1: LED amarelo 3.000K ($128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L2: LED branco 6.500K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L3: lâmpada branca fluorescente 6.500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e L4: luz natural ($35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), aos 45 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

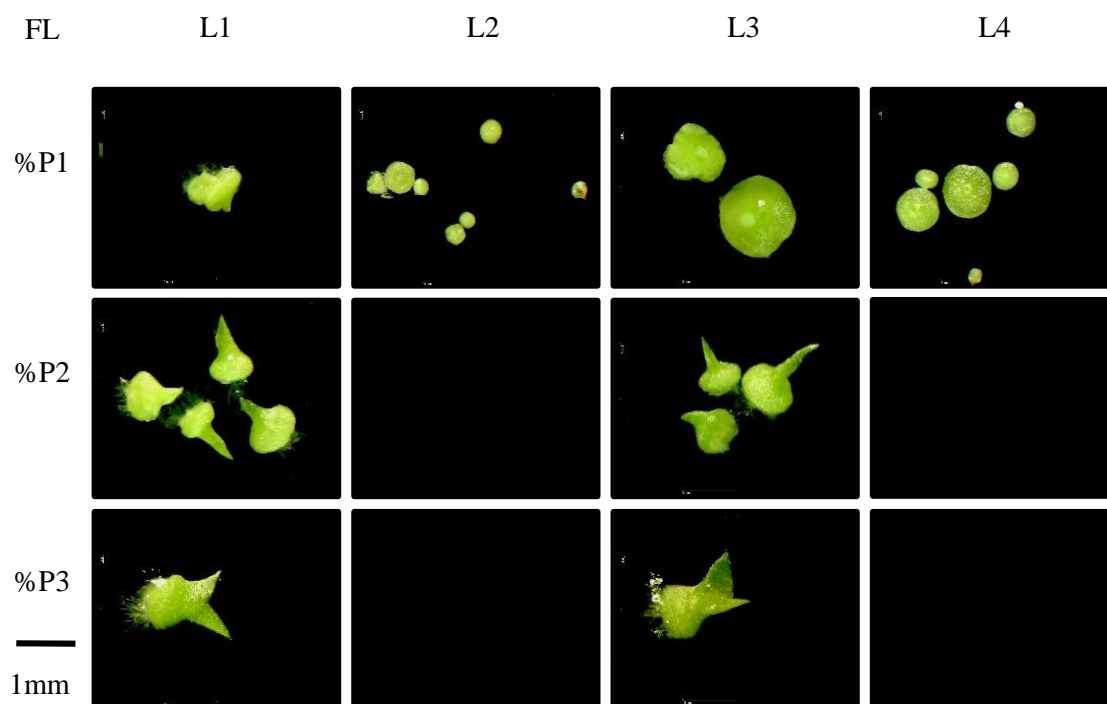


FIGURA 3. Protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2) e estágio 3 (%P3) de *Cattleya walkeriana* Gardner, em função das fontes de luz (FL) - L1: LED amarelo 3.000K ($128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L2: LED branco 6.500K

(108 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L3: lâmpada branca fluorescente 6.500K (23 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e L4: luz natural (35 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), aos 45 dias após a sementeira. UFGD, Dourados/MS, 2021.

Desenvolvimento inicial aos 90 dias após a sementeira

Aos 90 dias de cultivo *in vitro*, verificou-se efeito das fontes de luz ($p < 0,05$) sobre a porcentagem de protocormos em estágio 1 (%P1), de plântulas em estágio 2 (%P2) e estágio 4 (%P4) para *C. nobilior*. Para *C. walkeriana*, ocorreu efeito das fontes de luz ($p < 0,05$) em todas as características avaliadas, exceto para plântulas em estágio 1 (%P1) (Quadro 4).

Quadro 4. Resumo da análise de variância da porcentagem de protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), em estágio 3 (%P3) e estágio 4 (%P4) de *Cattleya nobilior* Rchb.f. e *Cattleya walkeriana* Gardner, aos 90 dias após a sementeira. UFGD, Dourados/MS, 2021.

<i>Cattleya nobilior</i> Rchb.f.					
FV	GLQuadrado médio.....			
		%P1	%P2	%P3	%P4
FL	3	5477,24*	203,83*	233,11 ^{ns}	3618,87*
Total	15	17150,27	939,43	1501,93	12009,63
Média		43,60	13,82	12,55	30,03
C.V. (%)		11,47	18,72	36,60	12,58
<i>Cattleya walkeriana</i> Gardner					
FV	GLQuadrado médio.....			
		%P1	%P2	%P3	%P4
FL	3	564,81 ^{ns}	321,43*	283,62*	654,91*
Total	15	4887,29	3617,03	1728,20	7283,54
Média		50,42	12,91	14,15	21,80
C.V. (%)		23,22	57,20	31,20	47,86

FV: fator de variação; GL: grau de liberdade; FL: fonte de luz; *, ^{ns}: significativo e não significativo, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para *C. nobilior*, aos 90 dias de cultivo *in vitro*, observou-se que a utilização do L4 apresentou a maior %P1 com média de 92,38%. Em relação ao %P2, os maiores valores foram observados com o uso do L2 com média de 22,19%, mas não diferindo estatisticamente do L1 e L3 com médias de 14,41% e 13,96% respectivamente. O uso do L2 proporcionou a maior %P3 com média de 20,27%, mas sem diferença estatística dos demais tratamentos, com média geral de 12,55%. A maior %P4 foi observada com a utilização do L3 com média de 66,90% (Quadro 5).

QUADRO 5. Protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), estágio 3 (%P3) e estágio 4 (%P4) de *Cattleya nobilior* Rchb.f., em função das fontes de luz (FL) - L1: LED amarelo 3.000K ($128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L2: LED branco 6.500K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L3: lâmpada branca fluorescente 6.500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e L4: luz natural ($35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), aos 90 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

FL	%P1	%P2	%P3	%P4
L1	31,46 b	14,41 ab	12,59 a	41,55 b
L2	46,61 b	22,19 a	20,27 a	10,94 c
L3	3,95 c	13,96 ab	15,20 a	66,90 a
L4	92,38 a	4,74 c	2,15 a	0,75 c
Média	43,60	13,82	12,55	30,03
C.V. (%)	11,47	18,72	36,60	12,58

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Com relação a *C. walkeriana*, observou-se que aos 90 dias de cultivo, a utilização do L2 apresentou a maior %P1 (58,16%), mas não diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, com média geral de 50,67%. O Uso do L4 proporcionou a maior %P2 (23,99%), mas sem diferença estatística do L2 (18,55%). A maior %P3 foi observada com a utilização do L2 com média de 19,69%, mas diferença estatística do L1 e L4 com média de 14,23% e 14,95% respectivamente. O uso do L3 proporcionou a maior %P4 (35,47%), mas não diferindo estatisticamente do L1 e L4 com média de 30,40% e 22,18%. Dessa forma, pode-se inferir que o desenvolvimento inicial dessa espécie é satisfatória com o uso de LED amarelo 3.000K ($128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), lâmpada branca fluorescente 6.500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e também em condição de luz natural ($35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Quadro 6).

QUADRO 6. Protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), estágio 3 (%P3) e estágio 4 (%P4) de *Cattleya walkeriana* Gardner, em função das fontes de luz (FL) - L1: LED amarelo 3.000K ($128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L2: LED branco 6.500K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L3: lâmpada branca fluorescente 6.500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e L4: luz natural ($35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), aos 90 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

FL	%P1	%P2	%P3	%P4
L1	48,44 a	6,93 b	14,23 ab	30,40 a
L2	58,16 a	18,55 a	19,69 a	3,59 b
L3	57,21 a	3,91 b	3,41 b	35,47 a
L4	38,88 a	23,99 a	14,95 ab	22,18 a
Média	50,67	13,35	13,07	22,91
C.V. (%)	23,22	57,20	31,20	47,86

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Ao verificar a figura 4, pode-se observar que as diferentes fontes de luz utilizadas aos 90 dias após a semeadura, influenciaram no tamanho dos propágulos, independente do estágio de desenvolvimento. A utilização do L1 e L3 apresentaram visualmente protocormos e plântulas de maior tamanho em comparação aos outros tratamentos. Dessa forma, pode-se inferir visualmente que a utilização do L1 e L3 é apropriada para o crescimento e desenvolvimento inicial de *C. nobilior* (Figura 4).

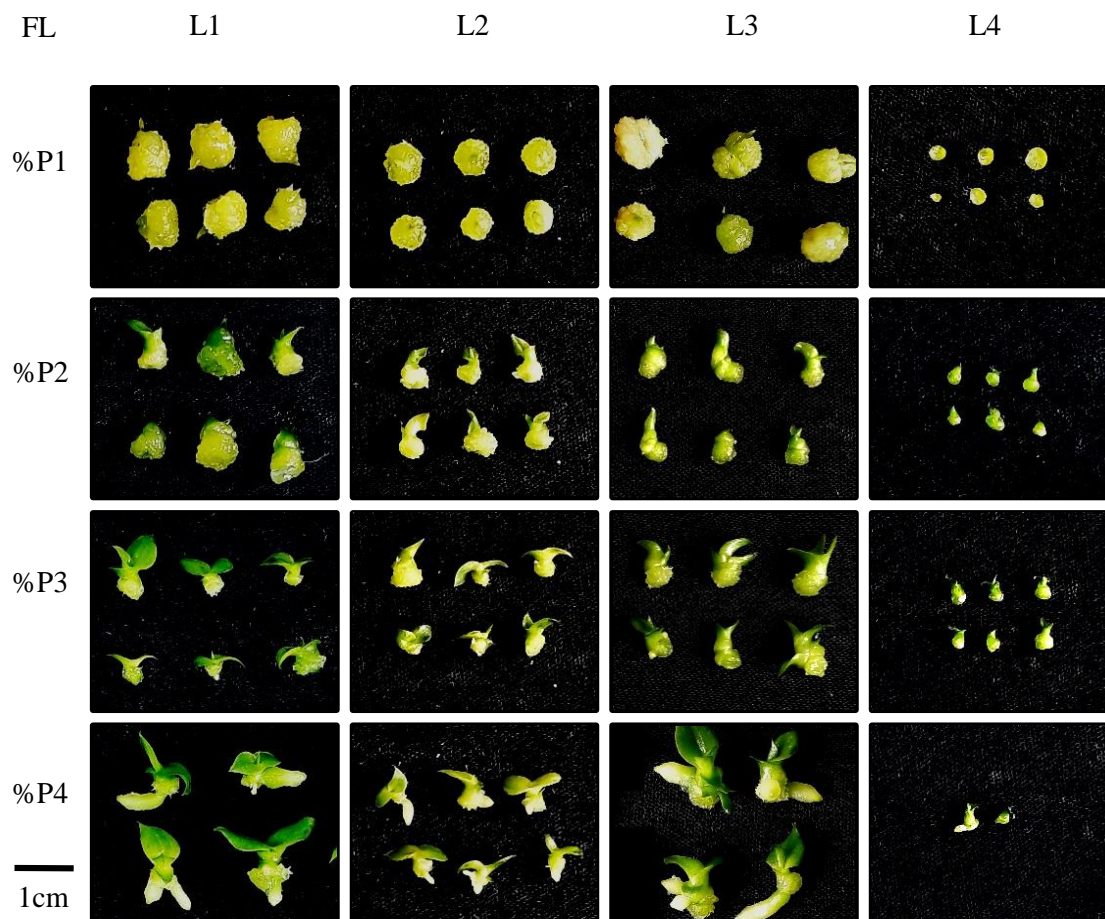


FIGURA 4. Protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), em estágio 3 (%P3) e estágio 4 (%P4) de *Cattleya nobilior* Rchb.f., em função das fontes de luz (FL) - L1: LED amarelo 3.000K ($128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L2: LED branco 6.500K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L3: lâmpada branca fluorescente 6.500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e L4: luz natural ($35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), aos 90 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

Já em relação a *C. walkeriana*, observou-se visualmente variação no tamanho dos propágulos aos 90 dias de cultivo *in vitro*, independente do estágio de desenvolvimento inicial e da fonte de luz utilizada. A utilização do L1 e L3

apresentaram visualmente protocormos e plântulas de maior tamanho em comparação aos outros tratamentos (Figura 5).

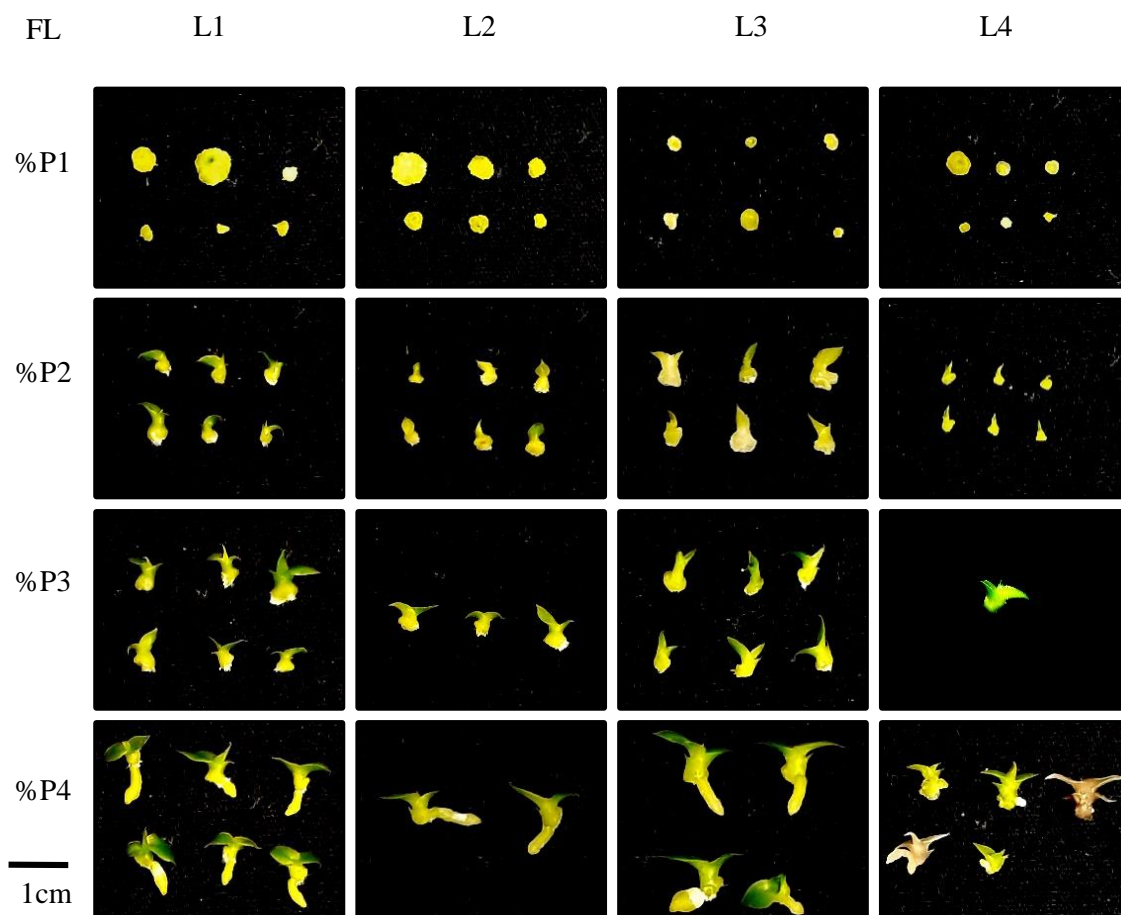


FIGURA 5. Protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), em estágio 3 (%P3) e estágio 4 (%P4) de *Cattleya walkeriana* Gardner, em função das fontes de luz (FL) - L1: LED amarelo 3.000K ($128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L2: LED branco 6.500K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L3: lâmpada branca fluorescente 6.500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e L4: luz natural ($35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), aos 90 dias após a sementeira. UFGD, Dourados/MS, 2021.

Aos 90 dias de sementeira, observou-se efeito das fontes de luz ($p < 0,05$) de *C. nobilior* para todas as características avaliadas. Para *C. walkeriana*, houve efeito das fontes de luz ($p < 0,05$) para plântulas em estágio 2 (P2 mm), em estágio 3 (P3 mm) e estágio 4 (P4 mm) (Quadro 7).

QUADRO 7. Resumo da análise de variância do tamanho dos protocormos em estágio 1 (P1 mm), plântulas em estágio 2 (P2 mm), em estágio 3 (P3 mm) e estágio 4 (P4 mm) de *Cattleya nobile* Rchb.f., e *Cattleya walkeriana* Gardner, aos 90 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

<i>Cattleya nobile</i> Rchb.f.					
FV	GLQuadrado médio.....			
		P1	P2	P3	P4
FL	3	7,66*	6,10*	12,69*	56,19*
Total	23	25,07	25,33	48,32	176,72
Média		3,33	4,22	3,93	5,99
C.V. (%)		3,63	6,24	7,01	4,00
<i>Cattleya walkeriana</i> Gardner					
FV	GLQuadrado médio.....			
		P1	P2	P3	P4
FL	3	0,74 ^{ns}	0,49*	10,88*	27,87*
Total	19	7,93	3,48	45,40	90,64
Média		1,53	2,46	1,96	3,40
C.V. (%)		11,30	5,34	16,45	7,23

FV: fator de variação; GL: grau de liberdade; FL: fonte de luz; *, ^{ns}: significativo e não significativo, pelo teste de Tukey (p<0,05).

A utilização do L1 apresentou protocormos em estágio 1 de maior tamanho, com média de 4,24 mm, mas não diferindo estatisticamente do L3 com média de 4,07%. A utilização do L1 proporcionou plântulas em estágio 2 de maior tamanho com média de 5,03 mm, no entanto sem diferença significativa do L2 e L3 (4,43 e 4,65 mm). Já os maiores valores para o tamanho de plântulas em estágio 3 e estágio 4 foram observados com o uso do L3 com média de 6,00 e 10 mm respectivamente (Quadro 8).

QUADRO 8. Tamanho (mm) dos protocormos em estágio 1 (P1), plântulas em estágio 2 (P2), em estágio 3 (P3) e estágio 4 (P4) de *Cattleya nobile* Rchb.f., em função das fontes de luz (FL) - L1: LED amarelo 3.000K (128 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L2: LED branco 6.500K (108 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L3: lâmpada branca fluorescente 6.500K (23 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e L4: luz natural (35 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), aos 90 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

FL	P1 mm	P2 mm	P3 mm	P4 mm
L1	4,24 a	5,03 a	3,47 b	6,48 b
L2	3,25 b	4,43 a	3,63 b	4,35 c
L3	4,07 a	4,65 a	6,00 a	10,00 a
L4	1,76 c	2,75 b	2,61 b	3,07 d
Média	3,33	4,22	3,93	5,99
C.V. (%)	3,63	6,24	7,01	4,00

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

De modo geral, novamente, os propágulos de *C. walkeriana*, apresentaram tamanho reduzido em relação aos propágulos de *C. nobilior*, independentemente do tipo da fonte de luz empregada. A utilização do L2 apresentou protocormos em estágio 1 de maior tamanho com média de 1,92 mm, mas sem diferença estatística dos demais tratamentos, com média geral de 1,53 mm. Já os maiores valores de tamanho de plântulas em estágio 2 foram observados com o uso de L3 (2,83 mm), mas não diferindo estatisticamente do L1 e L2 (2,44 e 2,49 mm). Observou-se plântulas de maior tamanho em estágio 3 com a utilização do L3 (3,12 mm), mas não diferindo estatisticamente do L1 e L2 (3,07 e 1,64 mm respectivamente). Já em relação as plântulas em estágio 4, a utilização do L3 proporcionou os maiores valores de tamanho (5,33 mm), mas não diferindo estatisticamente do L1 (4,56 mm) (Quadro 9).

QUADRO 9. Tamanho (mm) dos protocormos em estágio 1 (P1), plântulas em estágio 2 (P2), em estágio 3 (P3) e estágio 4 (P4) de *Cattleya walkeriana* Gardner, em função das fontes de luz (FL) - L1: LED amarelo 3.000K ($128 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L2: LED branco 6.500K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); L3: lâmpada branca fluorescente 6.500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e L4: luz natural ($35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), aos 90 dias após a semeadura. UFGD, Dourados/MS, 2021.

FL	P1 mm	P2 mm	P3 mm	P4 mm
L1	1,70 a	2,44 ab	3,07 a	4,56 ab
L2	1,92 a	2,49 ab	1,64 a	0,00 c
L3	1,49 a	2,83 a	3,12 a	5,33 a
L4	1,02 a	2,07 b	0,00 b	3,70 c
Média	1,53	2,46	1,96	3,40
C.V. (%)	11,30	5,34	16,45	7,23

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

DISCUSSÃO

Germinação e desenvolvimento inicial aos 45 dias após a semeadura

As diferentes fontes de luz estudadas atuaram de forma distinta nas respostas germinativas e de desenvolvimento inicial nas espécies de orquídeas, demonstrando que as respostas são de espécie específicas. Para *C. nobilior*, as fontes de luz não foram limitantes para a germinação das sementes, visto que houve elevadas porcentagens de germinação e também baixa mortalidade de protocormos, sugerindo que essa espécie é pouco exigente em relação a fonte de luz para a germinação de suas sementes. Com

relação a *C. walkeriana*, lâmpada branca fluorescente 6.500K (L3) e LED amarelo 3.000K (L1) proporcionaram as maiores %G com valores próximos a 90%, no entanto para essa mesma espécie, houve alta taxa de mortalidade, aqui representada pela porcentagem de propágulos não clorofilados em LED branco 6.500K (L2) (35,01 %PNC) sugerindo que *C. walkeriana* é mais exigente em relação a fonte de luz no processo de germinação. Os valores de germinação para ambas as espécies em estudo podem ser considerados satisfatórios para espécies nativas e corroboram com os encontrados por Sorgato et al. (2021) que, trabalhando com germinação de *Schomburgkia crispa* Lindl. em diferentes fontes de luz, encontraram %G média de 98%, independente da fonte de luz utilizada. Ainda Pérez (2016) ressalta a importância do trabalho de germinação *in vitro* com lâmpadas artificiais devido à grande diferença da necessidade de cultivo e fatores específicos das espécies de orquídeas, principalmente nativas. Sabe-se que a luz é um fator importante para as orquídeas cultivadas *in vitro* (GUPTA e JATOTHU, 2013), sendo assim, as lâmpadas artificiais como os LEDs colaboram tornando os sistemas de cultivo mais eficientes e proporcionando uma melhor conversão de energia elétrica em iluminação (NAVARRO, 2013). Meisel e Pinto (2011) explicam que em monocotiledôneas, os fitocromos são mais abundantes em tecidos jovens, e que as moléculas fotorreceptoras ou complexos de moléculas, quando ativadas por fótons de determinadas fontes de luz, traduzem sinais que causam a capacidade do organismo de responder a estímulos luminosos.

As melhores respostas foram observadas para a formação de plântulas em estágio 3 de *C. nobilior* e *C. walkeriana* aos 45 dias após a semeadura, com a utilização do L1, essa mesma fonte de luz influenciou positivamente tanto a germinação quanto o desenvolvimento inicial dessas duas espécies. Esses resultados corroboram com os de Sorgato et al. (2021) que avaliando o estabelecimento inicial de *Schomburgkia crispa* Lindl., observaram que essa mesma fonte de luz artificial, propiciou 45,6% de aumento de plântulas, promovendo dessa forma, melhores condições para o estabelecimento inicial de plântulas em um menor espaço de tempo. Esses resultados também podem ser atribuídos ao fato do L1 apresentar maior quantidade de energia na região do vermelho (Figura 1), o que, sob o ponto de vista fisiológico, contribui de maneira mais efetiva para a excitação dos pigmentos fotossintéticos (SORGATO et al., 2021). Além do L1 proporcionar irradiância maior que a L3 (fonte de luz artificial mais utilizada em ambientes *indoor*), este apresenta dois picos sinuosos em $\cong 460$ nm e em $\cong 580$ nm. Provavelmente, esses picos de comprimentos de onda de maior espectro contribuam

para o desenvolvimento desses propágulos (SORGATO et al., 2021). Hung et al. (2016) explicam que o comprimento de onda utilizado no cultivo *in vitro* também pode acarretar na promoção do crescimento foliar, acúmulo de carboidratos e alterações anatômicas, o que, neste estudo pode ter contribuído para o crescimento dessas plântulas.

É importante salientar ainda que, aos 45 dias de cultivo *in vitro*, a espécie *C. walkeriana* apresentou desenvolvimento mais lento e maior mortalidade de propágulos em relação a *C. nobilior*, evidenciando a menor rusticidade da espécie.

Desenvolvimento inicial aos 90 dias após a semeadura

A utilização da L3 proporcionou melhores condições para a maior porcentagem de plântulas em estágio 4 de *C. nobilior* aos 90 dias após semeadura. É importante salientar que para essa espécie, não houve influência das fontes de luz no processo de germinação, apresentando de modo geral 98,67%. Sendo assim, com esses resultados, pode-se inferir que a espécie *C. nobilior* é exigente quanto à fonte de luz somente para o desenvolvimento inicial dos propágulos.

Provavelmente essa fonte de luz ($6.500K - 23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) é a que mais se aproxima de seu habitat natural, visto que essa espécie ocorre em matas secas, e também vegeta em locais que apresentam longos períodos de estiagem e alta luminosidade (OSTETTO, 2015), demonstrando dessa forma a sua rusticidade. Ali et al. (2005) explicam que em ambiente natural, as orquídeas são expostas a intensidades de luz que flutuam consideravelmente ao longo do dia. No interior de uma floresta, manchas de sol são de curta duração e expõem as folhas do sub-bosque ao sol pleno, favorecendo o crescimento e desenvolvimento das plantas abaixo do dossel (BRANTLEY e YOUNG, 2010). De acordo com Soares (2018) em ambiente de sub-bosque já estabelecida, possuem PAR variando entre 5 e $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. É importante ressaltar que as respostas das plantas à diferentes fontes de luz é de natureza singular a cada espécie e, em Orchidaceae pode estar associado à anatomia da planta (PINHEIRO, 2012; HUNG et al., 2016; TAIZ et al., 2017).

Com relação a *C. walkeriana*, observou-se que a utilização da L3 apresentou a maior formação de plântulas em estágio 4 aos 90 dias após semeadura, no entanto, sem diferença estatística do L1 e a L4. Vale lembrar que para essa espécie, houve influência da fonte de luz no processo de germinação, com média geral de 92,72% quando também utilizou-se a L3. Dessa forma, pode-se inferir que ao contrário da *C. nobilior*, a espécie

C. walkeriana por ser uma planta de ambiente mais sombreado é mais exigente quanto à variação da irradiância, somente para o processo de germinação. Lin e Hsu (2004) relatam que a capacidade de aclimatação ou ajuste de uma planta ao regime de luz é determinado geneticamente e define sua plasticidade fisiológica frente a um fator ambiental.

A fonte de luz artificial como os LEDs ou lâmpadas convencionais podem proporcionar aumento da quantidade de clorofila e de carotenóides nos tecidos das plantas (OLIVEIRA, 2008). Braga (2009) afirma que a fonte de luz artificial afeta a estrutura e a anatomia das folhas, parecendo exercer maiores efeitos durante a expansão foliar, exibindo alto grau de plasticidade tanto anatômico como fisiológico como germinação, inibição de alongamento do hipocótilo, expansão dos cotilédones e das folhas, e biossíntese de pigmentos, alongamento do caule e indução ao florescimento em plantas propagadas convencionalmente. Caron et al. (2014) reforçam que a capacidade das plantas crescerem em condições de maior ou menor luminosidade vai depender das estruturas morfológicas e fisiológicas, ou seja, das estratégias adaptativas. Freitas (2019) trabalhando com crescimento *in vitro* de orquídeas do gênero *Cattleya*, observou que o fornecimento de luz artificial por lâmpadas LED 3.000K, independente da irradiância, teve influência positiva na promoção do crescimento de plântulas.

Por outro lado, a luz natural contém o equilíbrio perfeito de luz vermelha e azul para produzir o crescimento ideal e desenvolvimento das plantas, a radiação solar controla muitos processos do desenvolvimento, agindo como um sinal para a germinação, o crescimento direcionado e a arquitetura da planta (MARQUES, 2019). Além disso, EBURNEO et al. (2017) relataram que os estômatos de *Catasetum x apolloi* Benelli & Grade responderam melhor ao estresse hídrico quando cresceram em ambiente de luz natural. No entanto, neste trabalho quando as culturas foram acondicionadas em viveiro telado (luz natural), o ambiente dentro do telado por não ser controlado, resultou em oscilação de temperatura e irradiância no interior do frasco de cultivo ao longo do dia. Estes fatos podem ter contribuído para a mortalidade de protocormos e plântulas. Mesmo assim ambas as espécies se desenvolveram até P4 aos 90 dias de cultivo.

Ainda, pode-se observar que houve variação na diferença de tamanho dos propágulos entre *C. nobilior* e *C. walkeriana*, independente do estágio de desenvolvimento. Dessa forma, com esses resultados, pode-se inferir que a espécie *C. walkeriana*, mesmo pertencendo ao mesmo gênero, possui um desenvolvimento mais

lento em relação à *C. nobilior*, esse fato evidencia que os protocolos de germinação e estabelecimento inicial *in vitro* para família Orchidaceae precisam ser espécie específicos. Para Godo et al. (2009) os resultados inibitórios ou promocionais na germinação e desenvolvimento inicial de protocormos e plântulas sob a luz são traços intrínsecos de cada espécie.

Dessa forma, considerando a importância e a ampla variedade de espécies dentro da família Orchidaceae, não é possível generalizar os efeitos das diferentes fontes de luz na germinação e no desenvolvimento inicial *in vitro*. Sendo assim, os resultados obtidos neste trabalho são de suma importância tanto para a produção comercial quanto na conservação dessas espécies em estudo, visto que cada planta, principalmente as nativas respondem a determinada fonte de luz.

CONCLUSÃO

As fontes de luz testadas não foram limitantes para a germinação de *C. nobilior*. Para *C. walkeriana* as maiores porcentagens de germinação ocorreram sob o efeito de fontes de luz artificiais lâmpada fluorescente e o LED amarelo 3.000K.

A lâmpada branca fluorescente proporcionou melhores condições para o desenvolvimento inicial de *C. nobilior* e *C. walkeriana*, sendo que para esta última, sem diferença para o LED 3.000K.

Com base nos resultados desse estudo recomenda-se o utilização de fontes de luz artificial nas duas espécies estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, R. **Orquídeas Walkeriana**. São Paulo: Editora Europa, 2017. 79 p.
- BORGES, D. I. O. M. C.; PENONI, E. D. S.; 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. 09-16, 2011.
- BRAGA, F. T.; PASQUAL, M.; CASTRO, E. M.; DIGNART, S. L.; BIAGIOTTI, G.; PORTO, J. M. P. Espectro de luz no cultivo *in vitro* de *Dendranthema grandiflorum* cv. Rage: características morfofisiológicas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 2, p. 502-508, 2009.
- BRANTLEY, S. T.; YOUNG D. R. Linking light attenuation, sunflecks, and canopy architecture in mesic shrub thickets. **Plant Ecology**, v. 206, n. 1, p. 225-236, 2010.
- CARDOSO, J. C. *Ionocidium* ‘cerrado 101’: intergeneric orchid hybrid with high quality of blooming. **Ornamental Horticulture**, v. 23, n. 1, p. 351-356, 2017.
- 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.
- CARON, B. O.; SCHMIDT, D.; MANFRON, P. A.; BEHLING, A.; ELOY, E.; BUSANELLO, C. Eficiência do uso da radiação solar por plantas *Ilex paraguariensis* A. ST. HIL. cultivadas sob sombreamento e a pleno sol. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 2, p. 257-265, 2014.
- CNCFLORA. **Lista Vermelha 2020**. Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/listavermelha/ORCHIDACEAE>. Acesso em: 08 janeiro 2021b.
- 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.
- EBURNEO, L.; RIBEIRO-JÚNIOR, N. G.; KARSBURG, I. V.; ROSSI, A. A. B.; SILVA, I. V. Anatomy and micromorphometric analysis of leaf *Catasetum x apolloi* Benelli & Grade with addition of potassium silicate under different light sources. **Brazilian Journal of Biology**, v. 77, n. 1, p. 140-149, 2017.
- FAY, M. F. Orchid conservation: how can we meet the challenges in the twenty-first century?. **Botanical Studies**, v. 59, n. 16, p. 01-06, 2018.
- FLORA DO BRASIL EM CONSTRUÇÃO. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acessado em: 12 janeiro 2021.

FREITAS, K. G. **Crescimento *in vitro* de *Cattleya nobilior* Rchb.f.: meios de cultura, sistema de micropropagação e irradiância.** Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS, 2019.

GODO, T.; YUKAWA, T.; MIYOSHI, K. The effects of BA, illumination and temperature on asymbiotic seed germination of mature seeds of four Japanese endangered taxa of *Calanthe* (Orchidaceae). **Bull Bot Gard Toyama**, v. 14, n. 4, p. 33-40, 2009.

GUPTA, S. D. **Light emitting diodes for agriculture.** Singapore: Springer, 2017. 334 p.

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. 1, p. 211-220, 2013.

HANUS-FAJERSKA, E.; WOJCIECHOWSKA, R. Impact of Light-Emitting Diodes (LEDs) on propagation of orchids in tissue culture. In: GUPTA, S. D. (ed) **Light Emitting Diodes for Agriculture.** Springer, 2017. 305-320 p.

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 Physiol Plant**, v. 38, n. 1, p. 152, 2016.

KITSINELIS, S. **Light sources: technologies and applications,** USA: CRC Press, 2011. 226 p.

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**, v. 55, n. 2, p. 141-145, 1999.

LIN, M. J.; HSU, B. D. Photosynthetic of *Phalaenopsis* in response to different light environments. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, n. 1, p. 1259-1268, 2004.

MARQUES, H. **Análise do desenvolvimento do alface em diferentes tons de iluminação LED.** Trabalho de Conclusão de Curso – Centro Universitário de Anápolis, Anápolis – GO, 2019.

MEISEL, L. U. D.; PINTO, M. Fotorreceptores y respuestas de plantas a señales lumínicas. In: CARDEMIL, F. A. S. (ed) **Fisiología vegetal.** Ediciones Universidad de La Serena, 2011. 01-10 p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiology Plantarum**, v. 15, n. 1, p. 473-497, 1962.

NAVRRO, V. P. **Análisis de la utilización de luz emitida por lámparas de diodo LEDs en la producción *in vitro* para la obtención de semillas prebásicas de**

Solanum tuberosum. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia de Produção Agropecuária – Universidade Católica Argentina.

OLIVEIRA, R. P.; ROCHA, P. S. G.; SCIVITTARO, W. **Estruturação de sistema de LEDs em laboratório de cultura de tecidos**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2011. 11 p.

OSTETTO, S. **Orquídeas de Mato Grosso do Sul**. Campo Grande: Alvorada, 2015. 141 p.

OUZOUNIS, T.; PARJIKOLAEI, B. R.; FRETTÉ, X.; ROSENQVIST, E.; OTTOSEN, C. Predawn and high intensity application of supplemental blue light decreases the quantum yield of PSII and enhances the amount of phenolic acids, flavonoids, and pigments in *Lactuca sativa*. **Frontiers in Plant Science**, v. 26, n. 1, p. 01-16, 2015.

PÉREZ, L. M. **Estudio de la influencia de diferentes longitudes de onda de luz LED em la germinación de una orquídea *Encyclia* sp.** 2016. 49p. Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas (Ecologia y Biodiversidad) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu – PR.

PINHEIRO, C. L. **Ecofisiologia do estresse luminoso em espécies de *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae)**. 2012. 100p. Dissertação de Mestrado em Biodiversidade Tropical (Ecofisiologia Tropical) – Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo – ES.

SILVA, 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.

SOARES, J. S. **Técnicas de cultivo *in vitro* como alternativa para a conservação de *Schomburgkia crispa* Lindl. (Orchidaceae) e sua reintrodução em ambiente natural**. 2018. 101p. Tese de Doutorado em Recursos Naturais – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados – MS.

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. 275-284, 2014.

SOARES, J. S.; SORGATO, J. C.; RIBEIRO, L. M. Protocolo para germinação assimbiótica e desenvolvimento inicial de protocormos de orquídeas nativas do Cerrado brasileiro. **Revista Rodriguésia**, v. 71, n. 1, p. e01332018, 2020.

SORGATO, J. C.; MUDOLON, E. D.; GUIMARÃES, F. F.; SOARES, J. S.; RIBEIRO, L. M. Light sources on the germination and initial *in vitro* establishment of *Schomburgkia crispa* Lindl., a species of the Brazilian Cerrado. **Ciência Rural**, v. 51, n. 3, p. e20190022, 2021.

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.

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**. Porto Alegre: Artmed, 2017. 918 p.

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.

TERFA, M. T.; SOLHAUG, K. A.; GISLEROD, H. R.; OLSEN, J. E.; TORRE, S. A high proportion of blue light increases the photosynthesis capacity and leaf formation rate of *Rosa × hybrida* but does not affect time to flower opening. **Physiologia Plantarum**, v. 148, n. 1, p. 146-159, 2012.

THE PLANT LIST. **A working list of all plant species**. Disponível em: <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Orchidaceae/>. Acesso em: 21 janeiro 2021.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido a importância da conservação de espécies nativas e na produção comercial de plantas ornamentais como as Orchidaceae, o presente estudo permitiu concluir que a propagação *in vitro* de *Cattleya* sob diferentes tipos de luz, constitui-se em um método bastante satisfatório. No entanto, ainda há poucos estudos para determinar o ajuste das fontes de luz para espécies nativas, visto que cada planta responde a determinado tipo de luz, sendo assim algo intrínseco de cada espécie.

Nesse sentido, o resultado do teste de tetrazólio de sementes de *Cattleya nobilior* e *C. walkeriana* independente do pré-condicionamento, ambas as espécies mostraram que o condicionamento em temperatura ambiente foi mais adequado para a melhor visualização das sementes viáveis. Ainda, os resultados da porcentagem de germinação foram próximos aos valores da porcentagem de sementes viáveis.

De modo geral, todas os espectros de luz testadas neste trabalho, apresentaram condições para os maiores valores de germinação de *C. nobilior*, no entanto, para *C. walkeriana*, houve influência da espectro de luz utilizada para os maiores valores de germinação. Além disso, as luzes 50% branco + 25% azul + 25% vermelho e 100% vermelho monocromático demonstram-se melhores no desenvolvimento inicial de *C. nobilior* e *C. walkeriana*, respectivamente.

Independente da luz natural ou artificial utilizadas neste trabalho, de modo geral, ambas as fontes de luz apresentaram as maiores porcentagem de germinação para *C. nobilior*, em contra partida, a luz artificial como lâmpada branca fluorescente e LED amarelo 3.000K demonstram-se melhores na maior germinação de *C. walkeriana*. A utilização de fontes artificiais como a lâmpada branca fluorescente apresentou melhores condições para o melhor estabelecimento inicial de *C. nobilior*, porém o uso de lâmpada branca fluorescente, LED amarelo 3.000K e a luz natural demonstraram-se melhores na promoção de plântulas de *C. walkeriana*, entretanto, para esta última fonte de luz, houve visualmente maior mortalidade de plântulas. Com isso, indicando o uso de fontes artificiais de luz em cultivo *in vitro*.