



ESPECTRO LUMINOSO E BAP NA INDUÇÃO DE PLBs A PARTIR DE CALOS DE *Cattleya nobilior* Rchb.f. (ORCHIDACEAE)

J. C. M. Ramos^{1*}, A. Goelzer¹, C. R. Damiani¹

¹Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais – FCBA, UFGD – MS, Brasil
Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Article history: Received 29 October; Received in revised form 17 November 2020; Accepted 18 November 2020; Available online 30 December 2020.

RESUMO

Este estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito de 6-benzilaminopurina - BAP (0; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹) e espectros luminosos (branco, vermelho e azul), na indução de estruturas semelhantes à *protocormos* ("protocorm like bodies - PLBs") a partir de calos obtidos de explantes foliares. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado e os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 3x3 (três concentrações de BAP e três espectros luminosos), com quatro repetições (frasco) contendo cinco explantes cada. Aos 60 dias de cultivo foram avaliados o número e o comprimento dos protocormos, número de folhas por protocormo, massa fresca total, percentual de explantes oxidados e coloração dos explantes, sendo nesta última, atribuídos os seguintes valores: 1 – branco/amarelado, 2 – verde claro e 3 - verde escuro. A partir dos resultados obtidos foi possível concluir que o cultivo dos calos de *Cattleya nobilior* em meio MS suplementado com 1,0 mg L⁻¹ de BAP e sob espectro luminoso vermelho promove um aumento da massa fresca e diminui a oxidação dos protocormos, enquanto que, o cultivo em meio contendo 0,5 mg L⁻¹ de BAP e sob espectro luminoso branco promove um leve aumento no comprimento dos protocormos. No entanto, para o número de protocormos, número de folhas por protocormo e coloração dos protocormos, os tratamentos realizados não promoveram alterações significativas sobre estas variáveis.

Palavras-chave: Orquídea. Citocinina. Protocormos.

EFFECT OF LUMINOUS SPECTRUM AND BAP ON PLB INDUCTION FROM CALLI OF *Cattleya nobilior* Rchb.f. (ORCHIDACEAE)

ABSTRACT

This study was developed with the objective of evaluating the effect of 6-benzylaminopurine - BAP (0; 0.5 and 1.0 mg L⁻¹) and light spectra (white, red and blue), in the induction of structures similar to the protocorms ("protocorm like bodies - PLBs") from calli obtained from leaf explants. The experimental design used was completely randomized and the treatments were arranged in a 3x3 factorial scheme (three concentrations of BAP and three light spectra), with four replicates (flask) containing five explants each. At 60 days of cultivation, the number and length of protocorms, number of leaves per protocorm, total fresh

* jessica_monico13@hotmail.com

weight, percentage of oxidized explants and color of explants were evaluated, with the latter being assigned the following values: 1 - white / yellowish, 2 - light green and 3 - dark green. From the results obtained it was possible to conclude that the calli cultivation of *Cattleya nobilior* in MS medium supplemented with 1.0 mg L⁻¹ of BAP and under a red light spectrum promotes an increase in fresh mass and decreases the oxidation of protocorms, while, the culture in medium containing 0.5 mg L⁻¹ of BAP and under white light spectrum promotes a slight increase in the length of the protocorms. However, for the number of protocorms, number of leaves per protocorm and color of the protocorms, the treatments carried out did not promote significant changes on these variables.

Keywords: Orchid. Cytokinin. Protocorms.

INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae é vista como uma das maiores e mais representativas famílias dentre as Angiospermas, sendo 27.801 espécies catalogadas distribuídas em 899 gêneros (The Plant List, 2020). No Brasil, são listados 214 gêneros e 2.450 espécies, das quais 1.539 são endêmicas do país (FLORA DO BRASIL EM CONSTRUÇÃO, 2020).

O mercado de plantas ornamentais vem crescendo a cada ano, com uma movimentação estimada de cerca 8,6 bilhões no decorrer de 2019, 7% a mais que o ano anterior. Dessa forma, vem se destacando a produção de orquídeas tanto exóticas quanto nativas da flora brasileira (JUNQUEIRA & PEETZ, 2018; ENFLOR, 2019).

As espécies do gênero *Cattleya* são consideradas as “rainhas das orquídeas” por apresentarem flores grandes, coloridas e vistosas, além de possuírem uma boa adaptação a ambientes adversos (BENZING et al., 1982). Considera-se ainda que o potencial de espécies nativas de orquídeas como plantas ornamentais pode constituir uma oportunidade de produção, comercialização e

autossuficiência brasileira em produção de cultivares e mudas (CARDOSO, 2013).

Cattleya nobilior Rehb.f. foi descrita pela primeira vez em 1883 por Reichenbach. Também é conhecida como a Rainha do Cerrado e corresponde a uma das espécies mais valorizadas da família Orchidaceae. De ocorrência em matas secas, é uma espécie nativa do Brasil Central, sendo geralmente encontrada em habitats de clima quente, com alta luminosidade e também vegetando em locais que apresentam longos períodos de estiagem (OSTETTO, 2015). Quanto ao aspecto morfológico, suas flores podem chegar até 15 cm de diâmetro e as cores variam do branco ao roxo – rosado, os lobos laterais do labelo recobrem quase que toda a coluna da planta e suas folhas possuem forma elíptica e oblonga, com inflorescência em pseudobulbo diferenciado sem folhas, que produzem de uma a três flores. O caule é do tipo rizomatoso, com dois entrenós por rizoma, pseudobulbos claviformes e geralmente bifolheado e o seu comprimento pode variar de cinco até 30 cm (WATANABE, 2002; ARAÚJO, 2016; BARROS et al., 2018; BARROS et al., 2019).



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

Ferramentas biotecnológicas têm sido utilizadas para obtenção de plantas tanto para a pesquisa e conservação das espécies, quanto para a produção em escala comercial, permitindo assim material com elevada qualidade fitossanitária e em um curto período de tempo (FARIA et al., 2012; CARDOSO, 2014; REED, 2017; TEIXEIRA DA SILVA, 2017).

Alguns dos fatores que determinam o sucesso da cultura de tecidos vegetais são a origem do explante e o meio nutritivo onde são cultivados (VILLA et al., 2014). Um dos meios de cultura mais utilizados no cultivo *in vitro* de orquídeas é o MS (TEIXEIRA DA SILVA et al., 2015), sendo o mesmo composto de macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, FeEDTA, e sacarose, sendo em geral suplementado com reguladores de crescimento e agente geleificante. Os meios de cultura normalmente são utilizados a fim de atender as necessidades das plantas quanto à nutrição mineral, no entanto, pode haver alteração nas formulações de acordo com a espécie cultivada *in vitro* (GALDIANO JÚNIOR et al., 2013).

MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, da Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS.

O material vegetal utilizado consistiu de massas de calos com aproximadamente 0,5 cm de diâmetro. Os calos foram obtidos a partir do cultivo

Reguladores vegetais são comumente utilizados para equilibrar o crescimento e a morfogênese dos tecidos vegetais *in vitro* (VICTÓRIO et al., 2008). As citocininas, por exemplo, são responsáveis por participar ativamente dos processos de divisão e diferenciação celular (SANTOS et al., 2010). Dentre elas a 6-benzilaminopurina (BAP), é considerada a mais eficiente na multiplicação de explantes e indução de gemas, além de ser obtida por menor custo no mercado (LINO, et al., 2009; CAMPOS et al., 2007).

Dentre os fatores que podem influenciar no sucesso do cultivo *in vitro* (germinação, crescimento e desenvolvimento do material vegetal) está a qualidade de luz presente na sala de crescimento (KERBAUY, 2012; MASSARO et al., 2018). A luz participa de vários processos de desenvolvimento metabólico da planta, sendo um fator importante para a fotossíntese e fotomorgogênese (SORGATO et al., 2015; HANUS-FAJERSKA e WOJCIECHOWSKA, 2017).

prévio de explantes foliares de *Cattleya nobilior* Rchb.f.

Para a obtenção dos calos foi utilizado o meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de inositol, 0,1 mg L⁻¹ de AIA (ácido indol acético) + 0,1 mg L⁻¹ de TDZ (thiadizuron) e pH 5,8 ajustado antes da

inclusão de 6 g L⁻¹ de ágar. Para o desenvolvimento deste trabalho, utilizou-se o mesmo meio de cultura descrito acima, sendo alterado apenas o regulador de crescimento. Após o preparo, o meio de cultura foi distribuído em frascos de vidro transparente com capacidade de 500 mL (100 mL/frasco) e esterilizado em autoclave a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos.

Os tratamentos consistiram de três espectros luminosos (branco, vermelho e azul) e três concentrações de 6-benzilaminopurina - BAP (0; 0,5 ou 1,0 mg L⁻¹), fatorial 3x3, totalizando 9 tratamentos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo cada tratamento constituído de quatro repetições e cada repetição composta por um frasco de cultivo contendo cinco explantes cada.

Os diferentes espectros luminosos foram fornecidos por meio da modificação do espectro luminoso das lâmpadas

fluorescentes branco-frias, utilizando filtros coloridos de papel celofane.

Após a preparação dos explantes e inoculação em meio de cultivo, os filtros foram colocados sobre os frascos de cultivo e estes mantidos em sala de crescimento, com 16 horas de fotoperíodo, densidade de fluxo de fótons do período de luz de 45 μmol m⁻² s⁻¹ e temperatura de 25 ± 2°C. Para o tratamento luz branca (controle), os frascos foram mantidos diretamente sob a lâmpada fluorescente de 40W, 6400k (Ourolux®).

Aos 60 dias de cultivo, foram avaliadas as variáveis: número de protocormos (NP), número de folhas/protocormo (NF), percentual de oxidação (OXI), coloração (COR) e massa fresca total (MF). Para a variável coloração foram atribuídos valores de 1 a 3, sendo 1 = calo branco/amarelado, 2 = verde claro e 3 = verde escuro (Figura 2).

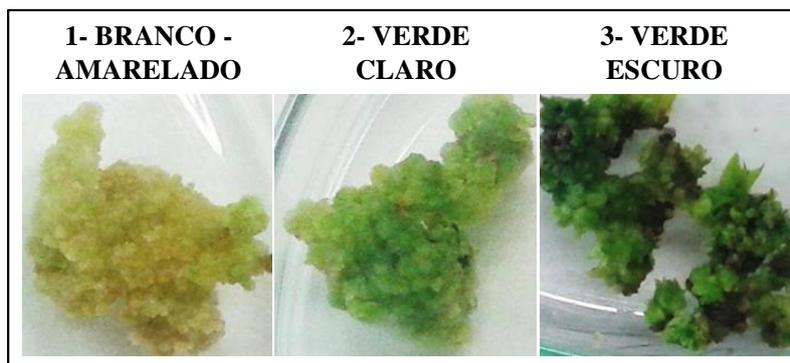


Figura 2. Coloração dos Protocormos *like bodies* de *Cattleya nobilior* Rchb.f. utilizados como parâmetros de avaliação. Foto: Cláudia Roberta Damiani

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan (p<0,05),

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância para o número de protocormos, comprimento de protocormos, número de folhas/protocormos, percentual de calos/protocormos oxidados e coloração

com o uso do programa estatístico Winstat (MACHADO et al., 1999).

dos calos/protocormos, não foram observadas diferenças significativas para os fatores testados pelo teste F (Tabela 1). Entretanto, o efeito do espectro luminoso foi verificado sobre a massa fresca obtida.

Tabela 1. Resumo da análise de variância (ANOVA): Número de protocormos (NP); Comprimento de protocormos (CP); Número de folhas (NF); Explantes oxidados (EO); Coloração (COR); Massa fresca (MF).

FV	GL	Quadrados Médios					
		NP	CP	NF	EO	COR	MF
Espectro	2	0,0702 ^{ns}	0,0098 ^{ns}	0,0187 ^{ns}	0,4095 ^{ns}	0,0696 ^{ns}	0,7515*
BAP	2	1,2534 ^{ns}	0,0276 ^{ns}	0,1436 ^{ns}	0,0027 ^{ns}	0,0073 ^{ns}	0,2646 ^{ns}
Espectro x BAP	4	0,0028 ^{ns}	0,0334 ^{ns}	0,0097 ^{ns}	0,1431 ^{ns}	0,0228 ^{ns}	0,4017 ^{ns}
Resíduo	18	17,8298	0,0191	0,0533	0,1959	0,0249	0,1671
CV (%)		39,5	57,6	18,42	99,4	9,5	25,5
Média		6,6	0,24	1,1	26	2,3	4,6

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

Para o número de protocormos por explante observou-se uma média geral de 6,6 (Tabela 2), não sendo verificadas pelo teste aplicado diferenças significativas entre os valores obtidos nos diferentes tratamentos. Porém é possível observar que houve maior desenvolvimento de protocormos sob o espectro branco sem a presença de regulador, sendo observado uma média de 10 protocormos neste tratamento em comparação aos calos cultivados em meio contendo 1,0 mg L⁻¹ de BAP, sob o mesmo espectro, onde foi

verificado a metade de protocormos formados.

Quanto ao número de folhas por PLBs semelhante ao número de protocormos, não foi possível observar diferenças significativas entre os tratamentos realizados (Tabela 2). Por outro lado, por meio da comparação de médias foi possível observar que o tratamento com 0,5 mg L⁻¹ BAP promoveu um leve aumento no comprimento dos protocormos sob o espectro de luz branca (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito de diferentes concentrações de BAP (mg L^{-1}) e do espectro luminoso na indução de protocormos de *Cattleya nobilior* aos 60 dias de cultivo *in vitro*.

BAP	Branco	Vermelho	Azul
Número de protocormos			
0	10,6Aa	8,0Aa	8,9Aa
0,5	6,5Aa	5,3Aa	6,8Aa
1,0	5,0Aa	4,3Aa	5,8Aa
Número de folhas por protocormos			
0	1,1Aa	1,5Aa	1,3Aa
0,5	1,1Aa	1,4Aa	1,4Aa
1,0	0,7Aa	0,8Aa	0,9Aa
Comprimento dos protocormos (cm)			
0	0,1Ab	0,3Aa	0,3Aa
0,5	0,4Aa	0,2Aa	0,2Aa
1,0	0,2Aab	0,2Aa	0,2Aa
Massa fresca dos protocormos (g cm^{-2})			
0	1,5Aa	1,5Ab	1,8Aa
0,5	1,2Aa	1,6Ab	1,6Aa
1,0	1,3Ba	2,4Aa	1,5Ba
Oxidação dos protocormos (%)			
0	20Aa	30Aa	20Aa
0,5	25Aa	13Aa	47Aa
1,0	25 Aa	5Ba	53Aa
Coloração dos protocormos			
0	2,7Aa	2,3Aa	2,3Aa
0,5	2,3Aa	2,6Aa	1,9 Aa
1,0	2,3Aa	2,5Aa	1,8Aa

Médias seguidas por letras distintas, minúscula na coluna e maiúscula na linha, diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Segundo Erig & Schuch (2005), a qualidade da luz afeta a eficiência biológica dos fitorreguladores adicionados ao meio de cultura, bem como o balanço hormonal nos tecidos. Estudos conduzidos por Araújo et al. (2009) em *Cattleya loddigessi* testando diferentes espectros semelhante a este trabalho, por meio do uso de papel celofane, observaram que o

espectro de luz azul aumentou o número de folhas.

De acordo com Victório & Lage (2009) a absorção da luz azul por fotorreceptores presentes nos órgãos vegetais modifica a conformação de flavoproteínas constituintes dos criptocromos, promovendo uma alteração na sua estrutura morfológica e fisiológica e

embora os fotorreceptores de luz azul e UV-A sejam os criptocromos, algumas respostas no desenvolvimento *in vitro* podem divergir, como o número de folhas e altura dos brotos, indicando mecanismos diferentes de ação deste grupo de fotorreceptores. Esta variação, de acordo com Kerbauy (2012) pode ser mediada por diferentes tipos de criptocromos e por isso a variação na fisiologia do desenvolvimento.

Para a massa fresca, apenas os explantes cultivados sob espectro luminoso vermelho suplementados pela concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP apresentaram significância dos resultados (Tabela 2). Segundo Taiz et al. (2017), a qualidade da luz fornecida ao material vegetal é fundamental para regular as vias bioquímicas envolvidas na morfogênese e no crescimento da planta. Dessa forma, a luz vermelha promove um acúmulo de carboidratos, crescimento foliar e algumas alterações anatômicas (HUNG et al., 2016), acarretando num aumento da massa fresca dessas plantas. No entanto, a influência da qualidade de luz sobre as características de crescimento e desenvolvimento está fortemente associada à espécie vegetal cultivada (HUNG et al., 2016; TAIZ et al., 2017).

Quanto à oxidação dos explantes (Tabela 2) foi possível observar que explantes cultivados em meio contendo $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP e sob o espectro vermelho apresentaram o menor percentual de oxidação (5%), porém, sob espectro azul e nesta mesma concentração de BAP ocorreu um maior percentual oxidação (53%). A redução do percentual de oxidação nos explantes tratados com $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP e sob o espectro vermelho confirma os dados obtidos com relação a massa fresca, pois nesta condição houve a maior produção de massa fresca ($2,4 \text{ g cm}^{-2}$).

Com relação à coloração dos PLBs os resultados observados não apresentaram diferenças significativas entre os

tratamentos, sendo verificada uma média de 2,3, ou seja, a grande maioria apresentou uma coloração verde clara (Tabela 2). Galdiano Junior et al. (2012) ao avaliarem o efeito da luz branca e vermelha sob os teores médios de pigmentos fotossintéticos em plântulas de *Cattleya loddigesii* constataram que a luz branca proporcionou maior produção de clorofila *a*, clorofila total, carotenóides e relação clorofila *a/b*, enquanto que a luz vermelha proporcionou uma maior produção de clorofila do tipo *b*. Com relação às moléculas de clorofila é importante destacar a diferença na coloração entre os dois principais tipos, *a* e *b*. A clorofila *a* em razão do espectro de absorção apresenta coloração verde-azulada, enquanto a clorofila *b* apresenta coloração verde-amarelada. A diferença na coloração se deve a clorofila *a* apresentar dois picos de absorção: na região do azul-violeta e na região do vermelho, sendo os comprimentos de ondas iguais a 440 e 675 nm, respectivamente e a clorofila *b* uma banda de absorção na região do azul-violeta (453nm) e outra na região do vermelho (675nm) (RABINOWITCH & GOVINDJEE, 1969). De acordo com Taiz et al. (2017), as clorofilas *a* e *b* são encontradas numa proporção média de 3:1, respectivamente, porém, essa proporção varia com a espécie, idade da folha, localização da folha na copa da planta. Além disso, de acordo com os últimos autores, em plantas umbrófitas (adaptadas a locais sombreados) esta relação é menor que em plantas heliófilas (adaptadas a condições de alta irradiância).

Quanto ao aspecto geral dos calos e protocormos de *Cattleya nobilior* é possível observar maior diferenciação dos calos em protocormos principalmente na presença de BAP independentemente do espectro testado (Figura 3). Na ausência de regulador os calos permanecem menos diferenciados, mais friáveis e com menor teor de pigmentos.

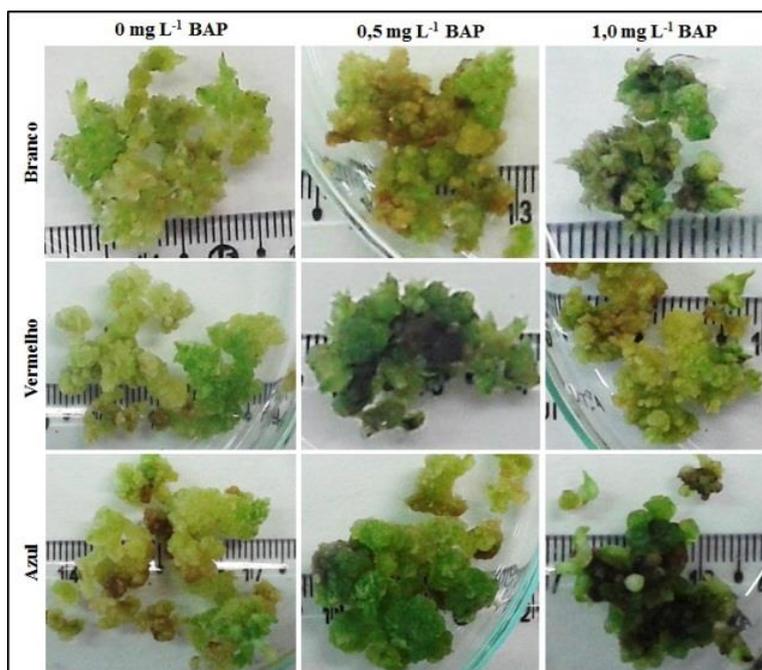


Figura 3. Aspecto geral dos calos e Protocormos *like bodies* aos 60 dias de cultivo *in vitro* de *Cattleya nobilior* em diferentes espectros luminosos e concentrações de BAP. Foto: Cláudia Roberta Damiani

CONCLUSÃO

Para obtenção de maior massa fresca e menor oxidação dos protocormos de *Cattleya nobilior* a partir de calos, recomenda-se a utilização do meio de cultura MS suplementado com 1,0 mg L⁻¹ de BAP, sob espectro luminoso vermelho, enquanto que, o cultivo em meio contendo 0,5 mg L⁻¹ de BAP e sob espectro

luminoso branco promove um leve aumento no comprimento dos protocormos.

Para número o de protocormos, número de folhas por protocormo e coloração dos protocormos, os tratamentos realizados não promoveram alterações significativas sobre estas variáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, A.G.; PASQUAL, M.; RODRIGUES, F. A.; RODRIGUES, J. D.; CASTRO, E. M. de; SANTOS, A. M. Crescimento *in vitro* de *Cattleya loddigesii* Lindl. em diferentes espectros luminosos associados com ácido giberélico. *Ceres*, v.56(5): 542-546, 2009.

ARAÚJO, R. **Orquídeas brasileiras**. São Paulo: Editora Europa, 2016.

BARROS, F.; VINHOS, F.; RODRIGUES, V. T.; BARBERENA, F. F. V. A.; FRAGA, C. N.; PESSOA, E. M.; FORSTER, W.; MENINI NETO, L.; FURTADO, S. G.; NARDY, C.; AZEVEDO, C. O.; GUIMARÃES, L. R. **S. Orchidaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. 2019.

BARROS, F. D. E; Orchidaceae in Flora do Brasil 2020 (em construção). **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2020.

BENZING, D. H.; OTT, D. W.; FRIEDMAN, W. E. Roots of *Sobralia macrantha* (Orchidaceae): structure and function of the velamen-exodermis complex. *American Journal of Botany*, v. 1(69): 508-614, 1982.

CAMPOS, R. V.; BIANCHI, V. J.; ROCHA, P. S. G.; SCHUCH, M. W.; FACHINELLO, J. C. BAP na multiplicação *in vitro* de porta-enxertos de *Prunus* spp. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 3(2): 55-60, 2007.

CARDOSO, J. C. Publicação em cultivo *in vitro* de plantas: qualidade para o avanço

científico e tecnológico. **Horticultura Brasileira**, v. 32(4): 383-384, 2014.

ENFLOR. Mercado brasileiro de flores e plantas ornamentais segue na contramão da crise. **In: Encontro nacional de floristas, produtores, atacadistas e empresas de acessórios**; Holambra, Release econômico; 2019.

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Ação da 6-benzilaminopurina e da qualidade da luz na multiplicação *in vitro* de macieira. *Malus domestica* Borkh. CVS. Galaxy e Master Gala. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 12(2), 151-155, 2006.

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

GALDIANO JÚNIOR, R. F.; MANTOVANI, C.; CASSANO, A. O.; LEMOS, E. M. Desenvolvimento inicial e crescimento *in vitro* de *Cattleya violaceae* (Kunth) Rolfe em diferentes concentrações de sacarose. **Acta Amazônica**, v. 43(2): 127-134, 2013.

GALDIANO JÚNIOR, R. F.; MANTOVANI, C.; PIVETTA, K. F. L.; LEMOS, E. G. de M. Crescimento *in vitro* e aclimatização de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae) com carvão ativado sob dois espectros luminosos. **Ciência Rural**, v. 42(5): 801-807, 2012.

HANUS-FAJERSKA, E.; WOJCIECHOWSKA, R. **Impact of Light-Emitting Diodes (LEDs) on propagation of orchids in tissue culture**. In: Dutta Gupta S. (eds) Light Emitting Diodes for Agriculture. Springer, p.305-320, 2017, https://doi.org/10.1007/978-981-10-5807-3_13.

HUNG, C.; 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. 38(6), 2016. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2164-0>.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Sustainability in Brazilian floriculture: introductory notes to a systemic approach. **Ornamental Horticulture**, v. 24(2): 155-162, 2018.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 478p, 2012.

LINO, L. O.; LUZ, J. M. Q.; NAVES, I. V.; RODRIGUES, T. M.; DIAS, L. A.; ARRUDA, A. S. Cinetina, ácido giberélico e BAP na indução de embriões somáticos a partir de anteras de caféiro *Coffea arabica* L. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 5(2): 111-117, 2009.

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

MASSARO, R.; FADIN, D. A.; MORAES, C. P.; VIEIRA, A. S.; MARTELINE, M. A. J. I. S. B. Light quality *in vitro* growth and acclimatization of two varieties of *Phalaenopsis amabilis* alba Blume (Orchidaceae). **Iheringia**, v. 73(2): 208-215, 2018.

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

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

RABINOWITCH, E.; GOVINDJEE, G. **Photosynthesis**. John Wiley and Sons Inc. NY. 273p, 1969.

REED, B. M. Plant cryopreservation: a continuing requirement for food and ecosystem security. **In vitro Cellular Developmental Biology – Plant**, 53(1): 285-288, 2017.

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(3): 110-124, 2017.

THE PLANT LIST. Version 1.1. **Publicado na internet**; Disponível em: <http://www.theplantlist.org/>. Acesso em 10 out. 2020.

SANTOS, M. R. A.; FERREIRA, M. G. R.; MARQUES, M. G.; SANTOS, M. R. A. BAP and AIB on *in vitro* culture of *Epidendrum ibaguense* Kunth. **Plant Cell Cult. Micropropagation**. Lavras, v. 6(2): 90-98, 2010.

SORGATO, J. C.; SOARES, J. S.; ROSA, D. B. C. J.; LEME, C. S. R. L.; PEREIRA, S. T. S.; REZENDE, L. S. de R. Imersão em solução nutritiva e ácido giberélico promovem a aclimatização intermediária de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Sure. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 13(3): 176-180, 2015.

VICTÓRIO, C. P.; CRUZ, I. P.; SATO, A.; KUSTE R, R. M.; LAGE, C. L. S. Effects of auxins and cytokinins on *in vitro* development of *Alpinia purpurata* K. Schum and phenolic compounds production. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 4 (2): 92-98, 2008.

VICTÓRIO, C. P.; LAGE, C. L. S. Efeitos da qualidade de luz na germinação e desenvolvimento inicial *in vitro* de *Phyllanthus tenellus*. Revista: **Ciência Agrônômica**, v. 40(3): 400-405, 2009.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; FERNANDES da SILVA, E. Micropropagação de híbridos de orquídea em meio Knudson com adição de vitaminas do meio MS, benzilaminopurina e carvão ativado. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35(2): 683-694, 2014.

WATANABE, D. **Orquídeas: manual de cultivo**. São Paulo, Associação Orquidófila de São Paulo. 296p, 2002.