

AVALIAÇÃO DOS SUBSTITUINTES DO ÁGAR EM MEIO ALTERNATIVO NO CULTIVO IN VITRO DA ORQUÍDEA *Dendrobium nobili* Lindl -FASE III

Estudante(s): Raquelly Izadora Miranda

Orientadora: Dionéias Schaurenn

Escola: Colégio Estadual Jardim Porto Alegre Ensino Fundamental, Médio e Técnico

Resumo

Na natureza, a semente de orquídea germina e se desenvolve mediante uma relação simbiótica com fungos micorrízicos, na cultura assimbiótica, a semente é colocada em um meio de cultura estéril, com todos os nutrientes necessários para a germinação e o desenvolvimento das sementes. Um dos componentes essenciais para a produção do meio é o Ágar, que confere uma consistência gelatinosa e semi-sólida ao meio. Sabe-se que o ágar é um dos ingredientes mais caros do meio, sendo de difícil substituição. Desta forma o presente estudo consistiu em se buscar um substituinte para o Ágar, testando materiais de menor custo e não convencionais ao método de propagação in vitro de orquídeas. Utilizou-se como substituintes: tijolo em pó, pedra brita, serragem de Pinus, maravalha de Pinus, serragem de grevilea, casca de cocô seco, fibra de cocô verde. Foram pesados a banana nanica, açúcar, carvão ativado, bokashi em uma balança de precisão, posteriormente todos os ingredientes com exceção do ágar foram misturados em um liquidificador com água destilada. Antes do meio ser distribuídos nos frascos colocou-se dentro destas diferentes massas de tijolo em pó, pedra brita, serragem de Pinus, maravalha de Pinus, serragem de grevilea, casca de cocô seco, fibra de cocô verde. Adicionou-se o Ágar apenas no meio Controle. Regulou-se o pH em 5.6 utilizando um pHmetro de bolso, bicarbonato de sódio e ácido acético. Aproximadamente 50mL de meio foram envazados nos frascos e autoclavados a 1.4 a.t.m durante 20 minutos. Para a inserção das sementes foi utilizada uma cuba de vidro com duas aberturas circulares, contendo uma lâmpada em seu interior. Os frascos foram flambados antes e depois da inserção de sementes e vedados com plástico filme e posteriormente foram levados para sala de cultivo no orquidário do colégio, onde semanalmente foram realizadas avaliações. O presente estudo ainda se encontra em andamento, porém alguns tratamentos já apresentaram germinação, serragem de Pinus, maravalha de Pinus, que em todas as 5 repetições apresentaram formação de plântulas.

Palavras-chave: Materiais alternativos, Orquídea, germinação.

INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae apresenta-se com aproximadamente 35.000 espécies e vários híbridos, sendo considerada a mais evoluída e a maior família do reino vegetal (SUTTLEWORTH et al., 1994). A Família Orchidaceae abrange 70 do número total de epífitos vasculares típicos de florestas tropicais e subtropicais úmidas. No entanto, a abundância e a diversidade são fortemente influenciadas pela mudança de condições ecológicas ao longo de gradientes altitudinais, latitudinais e continentais, sendo a distribuição de chuvas ao longo do ano,

combinadas com as variações de temperaturas, zilches fenômenos mais importantes para o sucesso destes epífitos (GENTRY GENTRY & DODSON 1987).

Porém, ainda é um método oneroso pelos custos dos reagentes utilizados na preparação dos meios de cultura. O ambiente de crescimento é outro entrave na micropropagação de plantas devido ao alto custo para controlar e manter, no , a temperatura e a intensidade luminosa adequadas ao desenvolvimento vegetal. Nesse sentido, a utilização de luz natural pode ser uma possibilidade para reduzir gastos. As plantas dependem da luz para realizarem processos vitais, sendo um dos fatores de maior efeito no processo morfológico que ocorre in vitro. A intensidade, qualidade e duração da luz afetam particularmente o processo fotossintético e aqueles mediados pelo fitocromo (GEORGE GEORGE, 1993; HANDRO & FLOH, 1990; KOZAI et al., 1991; KODYN & ZAPATA-ARIAS,).

A micropropagação permite que uma planta de interesses desejáveis possa ser multiplicada por vários subcultivos, havendo a possibilidade de que um novo cultivo esteja disponível mais rapidamente para uso comercial (PASQUAL PASQUAL PASQUAL et al, 2011). A propagação in vitro vem sendo utilizada em inúmeras espécies vegetais, pela alta qualidade fitossanitária das plantas produzidas, em curto espaço de tempo, independente da época do ano e pela possibilidade de preservação da identidade genética dos indivíduos (GUERRA GUERRA GUERRA et al., 1999; KOZAI et al., 1997).

Além da composição dos meios, outro motivo a ser considerado é a sua consistência, que geralmente é semi-sólida (MACEDO MACEDO et al., 2003). O ágar é o agente geleificante mais utilizado na solidificação dos meios de cultura. GEORGE (1993 1993) atribui isto à vantagem deste solidificante formar um colóide quando adicionado à água, tornando-se líquido a 100 °C e solidificando-se a 45 °C, mantendo-se estável nas temperaturas de incubação. Embora com inquestionável propriedade geleificante, ao ágar geralmente estão associados inibidores orgânicos e inorgânicos (PIERIK PIERIK, 1987), que podem alterar as características químicas e físicas do meio de cultura e, conseqüentemente, as respostas in vitro (ROMBERGER & TABOR, 1971).

Em commande disso, estudos utilizando amido de milho ou de mandioca em substituição ao ágar, apresentaram bons resultados para algumas culturas, principalmente na fase de enraizamento (FORTES FORTES et al., 1994). Entre as vantagens destes polissacarídeos, pode-se citar a facilidade de obtenção e o baixo custo quando comparados ao ágar, fatos que poderiam torná-los importantes aliados na busca da maior eficiência econômica do processo de propagação de plantas em laboratório (PEREIRA PEREIRA & FORTES, 2003).

REVISÃO DE LITERATURA

A família Orchidaceae originou-se na Malásia, durante o período cretáceo, quando em sua maioria como famílias das angiospermas tornadas-se diferenciadas (GARAY, 1972). Tal família está mais bem representada nas regiões tropicais e subtropicais (STOUTAMIRE 1964), podendo crescer como epífitas sobre árvores e arbustos, ser rupículas, terrícolas ou saprófitas.

Orchidaceae diferencia-se da maioria das famílias botânicas por suas sementes não possuírem reservas nutritivas suficientes para promover a germinação (RAMOS, 1969). Desta forma, na natureza, as sementes germinam em simbiose com fungos micorrízicos (ARDITTI 1979), entretanto a utilização de meios de cultura no cultivo in vitro torna possível a germinação das sementes e o desenvolvimento de plântulas de orquídeas assimbioticamente.

Consideradas em sua maioria plantas do tipo epífitas (que vivem em árvores), rupículas (que vivem sobre pedras) ou terrestres, as orquídeas apresentam raízes aéreas, cujas funções básicas são a fixação da planta aos troncos e galhos das árvores e a absorção de nutrientes, oriundos da decomposição de detritos acumulados nos troncos, bem como de umidade, proveniente das precipitações pluviométricas, do orvalho noturno e da umidade relativa do ar. Além dos tipos citados, existem também algumas espécies de orquídeas consideradas subterrâneas, como *Cryptanthemis* e *Rhizanthella* (DEMATTÊ, 1996; KRAMER, 1989; MILLER E WARREN, 1996).

As orquídeas apresentam desenvolvimento lento, requerendo assim, maior período de cultivo antes de serem comercializadas. Isso tem contribuído para o elevado valor unitário de suas plantas no mercado, o que acarreta em grande interesse na diminuição do tempo de formação de mudas de orquídea, principalmente, para a diminuição dos custos de produção (VICHATO VICHATO et al. 2007).

A família Orchidaceae, o gênero *Dendrobium* compreende cerca de 1500 espécies e, atualmente, é considerado o mais produzido e comercializado, tanto no Brasil quanto no Veneza. Originárias da China e do Himalaia, as plantas desse gênero necessitam de ambiente ventilado, temperatura entre 15°-25° C, regas regulares na primavera e no verão e mais espaçadas no outono e inverno (LORENZI & SOUZA, 1996). As espécies que compõem esse gênero são consideradas plantas epífitas e a grande maioria delas floresce no final do inverno ao início da primavera. Dentre as espécies cultivadas desse gênero,

destaca-se *Dendrobium nobile* Lindl., pela variedade de cores e etal. (KRAMER KRAMER, 1989; VIDIGAL etal. 1998).

Comercialmente, o cultivo de espécies do gênero *Dendrobium* é de grande importância para o agronegócio florícola mundial, devido, principalmente, a ampla capacidade de recombinação genética e de características como beleza, forma, tamanho e durabilidade de suas flores, o que torna a espécie *Dendrobium nobile* Lindl. e suas cultivares, plantas muito utilizadas na obtenção de híbridos de alto valor comercial e que apresentam liderança no comércio mundial de orquídeas envasadas e de corte (MORAES etal. 2002).

A espécie *Dendrobium nobile* Lindl, conhecida como olho de boneca, é uma orquídea herbácea, epífita, perene e entouceirada, originária da China e Himalaia. São citadas mais de 15 cultivares com flores de cores e tamanho variáveis, tolerantes ao frio, cuja multiplicação é geralmente feita por divisão de touceiras ou por keiks (LORENZI& SOUZA, 1999). É uma das orquídeas mais populares do Brasil, ocupando posição de destaque no mercado de plantas de corte e de vaso. O interesse por essa espécie é devido à sua ampla distribuição geográfica, crescimento em diferentes ranges e, principalmente, ao seu valor florístico (VICHATO etal., 2007).

(Sugestão) Partindo-se disto,O ágar tem sido muito utilizado na propagação in vitro, pela sua grande eficiência como agente geleificante, promovendo condições ideais de suporte para as plântulas no meio de cultura (FARIA etal., 2006).

De acordo com Adelberg etal. (1997), o ágar é rotineiramente utilizado como agente solidificante em meios nutritivos, embora meios líquidos tenham apresentado vantagens, como crescimento mais vigoroso, quando usados com aeração ou técnicas de suporte na propagação in vitro de híbridos de *Cattleya*. De acordo com Grattapaglia& Machado (1998), substratos inertes, como a vermiculita, a perlita ou espumas de poliuretano, embebidas em meio líquido, podem ser alternativas de menor custo que o ágar.

PROBLEMA

As sementes de orquídeas não possuem endosperma, que é o tecido nutriente responsável pela energia inicial para a germinação. Na natureza, para germinar as sementes dessas plantas, é necessária a simbiose entre certos fungos e orquídeas (ARDITTI, 1992). Portanto, a porcentagem de sementes germinadas no habitat natural é muito baixa.

O cultivo in vitro dessas plantas permite a germinação de todas as sementes viáveis, obtendo-se um grande número de plantas. No entanto, ainda é um método \caro devido ao custo dos

reagentes usados para preparar o meio de cultura. Em relação ao meio de cultura, a solidificação ou semi-solidificação depende da concentração do ágar utilizado, do valor do pH, do acúmulo de sal e da presença de substâncias que interferem na gelificação, como o carvão ativado (CALDAS CALDAS et al., 1990).

Como todos sabemos, o ágar é um dos componentes mais caros do meio, pois é difícil de substituir devido à grande quantidade. Para reduzir os custos de produção, foram testadas alternativas ao ágar, como amido de milho ou tapioca e açúcar. Estes têm mostrado resultados interessantes, principalmente na fase de enraizamento (FORTES FORTES et al., 1994 e FERRI & NACHTIGALL, 1996)

HIPOTESE

Obter um possível substituinte para o ágar com baixo custo e com a mesma eficiência de desenvolvimento de plantas.

As plantas não se desenvolverem de acordo com o esperado inviabilizando o estudo. Ter alta taxa de contaminação no estudo.

O desenvolvimento das plantas ser melhor do que o esperado com ausência do ágar. Serem liberadas resinas que interfiram no desenvolvimento das orquídeas.

OBJETIVOS:

OBJETIVO (S) GERAL (IS):

Avaliar o uso de diferentes substituintes para o ágar no desenvolvimento *in vitro* de orquídeas

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Avaliar o uso de pó de tijolo no desenvolvimento *in vitro* de orquídeas;
- Avaliar o uso de pedra brita no desenvolvimento *in vitro* de orquídeas;
- Avaliar o uso de papel no desenvolvimento *in vitro* de orquídeas;
- Avaliar o uso de tecido no desenvolvimento *in vitro* de orquídeas;
- Avaliar o uso de fibra de cocô verde no desenvolvimento *in vitro* de orquídeas;
- Avaliar o uso de casca de cocô seco no desenvolvimento *in vitro* de orquídeas;
- Avaliar o uso de serragem de pinus no desenvolvimento *in vitro* de orquídeas;
- Avaliar o uso de maravalha de pinus no desenvolvimento *in vitro* de orquídeas;

- Avaliar o uso de maravalha de grevílea no desenvolvimento *in vitro* de orquídeas;

METODOLOGIA

Primeiramente foram lavados os frascos e as tampas metálicas e foram cortados os filtros de papel foram cortados em formatos circulares para que pudessem ser encaixados nas tampas, logo após foram pesados todos os ingredientes como bokashi, carvão ativado, açúcar, bananas, e o ágar que foi só acrescentado no meio de controle.

Figura 1: Lavagem dos frascos.



Fonte: Gabrielli Monique Campos.

Figura 2: Pesagem dos ingredientes.



Fonte: Raquelly Izadora Miranda.

Em seguida foram colocados os componentes em um liquidificador fora o ágar e foram triturados com o acrescentamento de água destilada, e o meio de controle e levado ao fogo em um Becker e após alcançar fervura foi adicionado o Ágar, então foi ajustado o pH em 5,6 com um pH-metro de bolso e utilizando bicarbonato para básico e vinagre para ácido. O meio de cultura foi distribuído nos fracos nas quantidades de 25, 50, 75 e 100mL, antes já aviam sido colocados todos os substituintes nos frascos, estes sendo: pó de tijolo, pedra brita, papel, tecido, fibra de cocô verde, casca de cocô seco, serragem de pinus, maravalha de pinus, maravalha de grevílea. Foram levados a autoclave que chega a 1,4 ATM e 125 graus Celsius após todos os frascos após saírem da autoclave ficaram em repouso durante 24 horas.

Tabela 1: Concentrações de meio de cultivo por substituintes.

SUBSTITUINTES	QUANTIDADE DE MEIO			
	25ML	50ML	75ML	100ML
PÓ DE TIJOLO	25ML	50ML	75ML	100ML
PEDRA BRITA	25ML	50ML	75ML	100ML
PAPEL	25ML	50ML	75ML	100ML
TECIDO	25ML	50ML	75ML	100ML
FIBRA DE COCO VERDE	25ML	50ML	75ML	100ML
CASCA DE COCO SECO	25ML	50ML	75ML	100ML
SERRAGEM DE PINUS	25ML	50ML	75ML	100ML
MARAVALHA DE PINUS	25ML	50ML	75ML	100ML
MARAVALHA DE GREVILEA	25ML	50ML	75ML	100ML

Fonte: Raquelly Izadora Miranda.

Figura 3: Trituragem dos ingredientes.



Fonte: Raquelly Izadora Miranda.

Figura 4: Distribuição dos substituintes.



Fonte: Alisson Rodrigo Klauck.

Figura 5: Colocando ágar no meio de controle.



Fonte: Emanoely Loeblein de Sousa

Figura 6: Distribuição do meio de cultura nos frascos.



Fonte: Rafaela Furlaneto Liberali.

Figura 7: Autoclavagem.



Fonte: Dioneia Schauren.

As bancadas foram lavadas e higienizadas com álcool e hipoclorito, e a cuba de vidro teve o mesmo tratamento, e as capsulas foram colocadas no hipoclorito pelo período de 10 minutos e então, os frascos foram limpos flambados e levados para dentro da cuba, lá as cápsulas foram lavadas com água destilada e cortadas com uma lâmina e suas sementes foram distribuídas nos frascos após os mesmos foram retirados da cuba flambados e foi colocado plástico filme para que veda-se o frasco e então foram levados para sala de cultivo aonde são feitas as avaliações semanais.

Figura 8: Flambagem dos frascos.



Fonte: Alissin Rodrigo Klauck.

Figura 9: Inserção das sementes.



Fonte: Rafaela Furlaneto Liberali.

Figura 10: embalando frascos.



Fonte: Rafaela Furlaneto Liberali.

As avaliações foram feitas semanalmente avaliando os tratamentos e sus 5 repetições para ver se apresentaram germinação ou contaminação com fungos ou bactérias, e caso os frascos tenham apresentado contaminação geral eles são descartados. O estudo vai avaliar o tamanho da raiz, folha, bulbo e da planta por completa e os dados serão submetidos a análise estatística usando o Sistema SISVAR com teste de média de Scott knott há 0,05% de significância

Figura 11: Frasco com germinação.



Fonte: Raquelly Izadora miranda.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

No projeto pode-se analisar o desenvolvimento dos tratamentos de serragem de pinus e maravalha de pinus nas quantidades de 75ml de meio, já nos demais não apresenta germinação, e os frascos de tratamento de controle (contém ágar) apresentam germinação, mas com desenvolvimento lento

De acordo com Soares et al. (2014), os tratamentos sobre todas as variáveis analisadas e, de maneira geral, a utilização de 7,0 g L⁻¹ de ágar, acrescido de 7,0 g L⁻¹ de amido de milho propiciou maior crescimento das plantas enquanto que a substituição total do ágar pelo amido de milho ou pela fécula de araruta não foi favorável ao desenvolvimento *in vitro* da *Dendrobium nobile*.

De acordo com Faria et al. (2006), a espuma de poliuretano picada pode ser utilizada como alternativo ao ágar na propagação *in vitro* orquídea *Oncidium baueri*. Para explantes de outras espécies, como o café, foi verificado melhor desenvolvimento na ausência ou com baixa concentração de Ágar, devido a maior facilidade de absorção de nutrientes e/ou reguladores de crescimento pelos tecidos vegetais (REZENDE et al, 2008).

Deb & Pongener (2010), para o crescimento da espécie *Cymbidium aloifolium*, os quais observaram que a natureza da matriz física proporcionada pela espuma de poliuretano facilitou o crescimento de raízes *in vitro*, fator este que poderia melhorar a absorção de nutrientes do meio de cultura e propiciar maior crescimento com aumento da massa seca. Abreu et al. 2002, obteve resultados de que o amido de milho em variantes concentrações de 10 gL⁻¹ a 50 gL⁻¹ podem atuar como um possível substituto ao Ágar.

CONCLUSÕES

A partir das avaliações semanais com resultados preliminares percebe-se que os melhores resultados foram encontrados nos tratamentos de maravalha de pinus e serragem de pinus ambos na concentração de 75mL, contudo o estudo encontra-se em andamento e a análise estatística será feita a partir do momento em que os frascos forem abertos e as plantas medidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADELBERG, J.W. et al. Long term nutrient and water utilization during micropropagation of *Cattleya* on a liquid membrane system. **Plant Cell Tissue Organ Cult.**, Dordrecht, v. 48, p. 17, 1997.

ARAÚJO, A. G., PASQUAL, M., VILLA, F., COSTA, F. C., ÁGUA DE COCO E POLPA DE BANANA NO CULTIVO IN VITRO DE PLÂNTULAS DE ORQUÍDEA **Revista Ceres**, vol. 53, núm. 310, novembro-diciembre, 2006, pp. 608-61

ARDITTI, J. Aspects of the physiology of orchids. **Advances in Botanical Research**, v.7, p.421-655, 1979.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicação da cultura de tecidos de plantas**. Brasília : ABCPT/EMBRAPA - CNPH, 1990, p. 37-70.

DEB, C. R.; PONGENER, A. Search of alternative substratum for agar in plant tissue culture. **Current Science**, v.98, n.1, p.99-102, 2010.

DEMATTÊ, J.B.J ; DEMATTÊ, M.E.S.P. Estudos hídricos com substratos vegetais para cultivo de orquídeas epífitas. **Pesq. Agropecu. Bras.**, Brasília, v. 31, n. 11, p. 803-813, 1996.

DEZAN,F,L;CANASSO,F;LEAL,S,T;DIOGO,A,J;MASSARO,R;CORDEIRO,M,G; MORAES,P,C; **Crescimento in vitro de *Schomburgkia gloriosa* Lindl. em meio de cultivo simplificados**; Idesia vol.30 no.2 Arica ago. 2012

FARIAL,T,R;VICENTE,M,R,P,A;VICENTE,M,R,P;COSTA,M,M,T;FONSECA,B,C,I;SILV A,L,G;TAKAHASHI,A,S,L; Seleção de genótipos de *Dendrobium* (Orchidaceae) na fase de propagação in vitro; **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 4, p. 309-314, out./dez. 2006.

FERRI. V. C; CENTELLAS. A. Q; HELBIG. V. E; FORTES. G. R. L. SO DE ÁGAR, AMIDO E ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NO ENRAIZAMENTO IN VITRO DO PORTA-ENXERTO DE MACIEIRA MM 111. FERRI, Valdecir Carlos et al . Uso de ágar, amido e ácido indolbutírico no enraizamento in vitro do porta-enxerto de macieira MM 111. **Cienc. Rural**, Santa Maria , v. 28, n. 4, p. 561-565, Dec. 1998 .

FORTES, G. R. de L.; CONCEIÇÃO, A. M.; ZANOL, G. **Uso do amido comercial como meio solidificante para enraizamento in vitro de morangueiro (*Fragaria x ananassa*)**. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 13, 1994, Salvador. Anais... Salvador: Associação Brasileira de Fruticultura, p.1113-1114, 1994.

GARAY, L.A. On the origin of the Orchidaceae II. **Journal of the Arnold Arboretum**, v.53, p.202-15, 1972.

GENTRY, A.H. & DODSON, C.H. 1987. Diversity and biogeography of neotropical vascular epiphytes. **Annals of Missouri Garden** 74:205- 233.

- GEORGE, E.F. Plant propagation by tissue culture: the technology. 2.ed. Londres: **Exegetics**, 1993. 574p
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES et al. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI, 1998, p. 183–260.
- GUERRA, M. P.; DAL VESCO, L. L.; PESCADOR, R.; SCHUELTER, A. R.; NODARI, R. O. 1999a. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 34: 1557-1563.
- HANDRO, W.; FLOH, E.E.S.A. Organização de um laboratório de cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: EMBRAPA CNPH, 1990. 433p
- JUNIOR, R. F. G. MONANTOVANI, C. LEMOS, E. G. M. Seleção de agentes alternativos ao ágar para propagação de plântulas de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae). **Rev. Bras. Ciênc. Agrár.** Recife, v.7, suppl., p.756-760, 2012
- KODYN, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Natural light as an alternative light source for the in vitro culture of banana (*Musa acuminata* cv. 'Grand Naine 1') **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 55, n. 2, p. 144-145, 1998.
- KOZAI, T.; IWABUCHI, K.; WATANABE, I. Photoautotrophic and photomixotrophic growth strawberry plantlets in vitro and changes in nutrient composition of the medium. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 25, n. 2, p. 107-115, 1991.
- KOZAY T., KUBOTA C., JEONG B.R. 1997. Environmental control for the large scale production of plants through in vitro techniques. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 51: 49-56.
- KRAMER, J. **Orquídeas**. Rio de Janeiro: Salamandra, 1989. 276 p.
- KRAUSL, J.E.; KERBAUY, G.B.; MONEIRO, W.R.; Desenvolvimento de protocormos de *Catasetum pileatum* Rchb. f. in vitro: aspectos estruturais e conceituais; **Hoehnea** 33(2): 177-184, 2006.
- LORENZI, H. et al. Palmeiras no Brasil: nativas e exóticas. 1. ed. **Nova Odessa: Plantarum**, 1996.
- LORENZI, H.; SOUZA, H.M. Plantas Ornamentais no Brasil. 3. ed. **Nova Odessa:**

Plantarum, 1996.

MACEDO, C. E. C.; SILVA, M. G.; NOBREGA, F. S.; MARTINS, C. P.; BARROSO, P. A. V.; ALLOUFA, M. A. I. Concentrações de ANA e BAP na micropropagação de abacaxizeiro L. Merrill (*Ananas comosus*) e no cultivo hidropônico das plântulas obtidas *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.25, n.3, p.501-504, 2003.

MILLER, D.; WARREN, R. **Orquídeas do Alto da Serra**. Rio de Janeiro: Salamandra, v. 1, 1996. p. 200-228.

PASQUAL, M.; SOARES, J. D. R.; RODRIGUES F. A.; ARAUJO A. G.; SANTOS R. R. Influência da qualidade de luz e silício no crescimento *in vitro* de orquídeas nativas e híbridas. **Horticultura Brasileira**, v.29, n.1, p.324-329, 2011.

PEREIRA, J. E. S.; FORTES, G. R. L.; Multiplicação *in vitro* de cultivares de batata em meios de cultura líquido; Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, C. Postal 02372, 70770-900, Brasília, DF

PIERIK, R. L. M. ***In vitro* culture of higher plants**. Dordrecht: Martinus Nyhoff. 1987, 344p.

RAMOS, M.S.S. **A orquídea e sua reprodução por semente**. São Paulo: Ed. Saraiva, 1969. 163p.

REZENDE, J.C. de. **Desenvolvimento de embriões plântulas de *Coffea arabica* L. oriundas da embriogênese somática direta**. Lavras, 2005. 58 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras.

RIBEIRO, V. G., SANÁBIO, D., SOUZA, C. N., LOPES, P. S. N., BOCARDO, M. R., PASQUAL, M., Efeitos de ácido giberélico e carvão ativado no cultivo *in vitro* de *Citrus limonia* Osbeck chi; *Fisiologia Vegetal • Pesq. agropec. bras.* 35 (1) • Jan 2000

ROMBERGER, A.; TABOR, C. A. The *Picea abies* shoot apical meristem in culture. **American Journal of Botany**, v.58, p.131-140, 1971.

SOARES. J. S. ROSA. Y. B. C. J. SORGATO. J. C. ROSA. D. C. J. PEREIRA. S. T. S. Utilização de agentes geleificantes alternativos no cultivo *in vitro* de *Dendrobium nobile* Lindl. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.19; p. 2014.

STOUTAMIRE, W.P. Seeds and seedling of native orchids. **Michigan Botanist**, v.3, n.4,

p.104-19, 1964.

SUTTLEWORTH F. S, ZIM H. S, DILLON G. W 1994 **Orquideas: Guia dos orquidófilos.**

Tradução: Joaquim Gonzáles de Lema Filho, 5 ed. Rio de Janeiro, Expressão e cultura, 158p.

VICHIATO, M. R. M.; VICHIATO, M.; CASTRO, D. M.; DUTRA, L. F.& PASQUAL, M.

2007. Alongamento de plantas de *Dendrobium nobile* Lindl. com pulverização de ácido giberélico. **Ciência e Agrotecnologia**,31: 16-20.

VIDIGAL, M. et al. Lindo de Morrer. **Natureza**, São Paulo, n. 9, p. 14-19, 1998.