

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor,
o texto completo deste documento será
disponibilizado a partir de
20/12/2026.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

NAYRA YUMI TSUTSUMOTO

**CRESCIMENTO *IN VITRO* E ACLIMATAÇÃO DE ORQUÍDEAS NATIVAS COM
POTENCIAL ORNAMENTAL E PAISAGÍSTICO**

Ilha Solteira - SP

2024



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

NAYRA YUMI TSUTSUMOTO

**CRESCIMENTO *IN VITRO* E ACLIMATAÇÃO DE ORQUÍDEAS NATIVAS COM
POTENCIAL ORNAMENTAL E PAISAGÍSTICO**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Engenharia, Ilha Solteira, para obtenção do título de Doutora em Agronomia.

Área de Concentração: Sistemas de Produção.

Orientadora: Profa. Dra. Glaucia Amorim Faria

Coorientador: Prof. Dr. Antonio Flávio Arruda Ferreira

Ilha Solteira - SP

2024

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

T882c Tsutsumoto, Nayra Yumi.
Crescimento in vitro e aclimação de orquídeas nativas com potencial ornamental e paisagístico / Nayra Yumi Tsutsumoto. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2024 117 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistemas de Produção, 2024

Orientador: Gláucia Amorim Faria
Co-orientador: Antonio Flávio Arruda Ferreira
Inclui bibliografia

1. *Cattleya* spp. 2. Plantas propagação. 3. Aclimação (plantas). 4. Orquídeas. 5. Plantas ornamentais.



Amanda Sertori dos Santos

Bibliotecária - CRB/8-9061
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao
Usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Uma alternativa viável para a produção, multiplicação e conservação de plantas, sobretudo de orquídeas, é a cultura de tecidos vegetais. As orquídeas estão entre as plantas mais ameaçadas de extinção, não só pelo extrativismo excessivo e comércio ilegal, diante de seu elevado potencial econômico e ornamental, mas também pela baixa taxa de regeneração e germinação de sementes na natureza. As técnicas de cultivo *in vitro* contribuem para a multiplicação e conservação de orquídeas, uma vez que possibilitam altas taxas de germinação e formação de mudas em um curto período, que por sua vez podem ser utilizadas em programas de reintrodução de espécies em áreas naturais. Ademais, é de fundamental importância a formação de bancos de germoplasma para a manutenção da variabilidade genética dessas espécies nativas, de modo a contribuir com a conservação, com o estudo de processos ecológicos, aspectos fisiológicos relacionados ao crescimento e desenvolvimento das espécies, bem como colaborar com programas de melhoramento e de reintrodução em ambientes de restauração ambiental, reduzindo assim, o risco de extinção.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

A viable alternative for the production, multiplication and conservation of plants, especially orchids, is the culture of plant tissues. Orchids are among the plants most threatened with extinction, not only due to excessive extraction and illegal trade, given their high economic and ornamental potential, but also due to the low rate of regeneration and germination of seeds in nature. *In vitro* cultivation techniques contribute to the multiplication and conservation of orchids, since they allow high germination rates and formation of seedlings in a short period, which in turn can be used in programs to reintroduce species into natural areas. Furthermore, it is of fundamental importance to form germplasm banks to maintain the genetic variability of these native species, in order to contribute to conservation, with the study of ecological processes, physiological aspects related to the growth and development of species, as well as to collaborate with breeding and reintroduction programs in environmental restoration environments, thus reducing the risk of extinction.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: CRESCIMENTO IN VITRO E ACLIMATAÇÃO DE ORQUÍDEAS NATIVAS COM POTENCIAL ORNAMENTAL E PAISAGÍSTICO

AUTORA: NAYRA YUMI TSUTSUMOTO

ORIENTADORA: GLAUCIA AMORIM FARIA

COORIENTADOR: ANTONIO FLÁVIO ARRUDA FERREIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Agronomia, área: Sistemas de Produção pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ANTONIO FLÁVIO ARRUDA FERREIRA (Participação Virtual)
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Socio-Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP


Profa. Dra. MARTHA FREIRE DA SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Profa. Dra. ALINE REDONDO MARTINS (Participação Virtual)
Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Prof. Dr. CÉSAR FABIANO FIORITI (Participação Virtual)
Departamento de Planejamento, Urbanismo e Ambiente / Faculdade de Ciências e Tecnologia - UNESP

Prof. Dr. LUCAS HENRIQUE PEREIRA SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Construção Civil / Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo - IFSP

Ilha Solteira, 20 de dezembro de 2024

Documento assinado digitalmente
 **ANTONIO FLAVIO ARRUDA FERREIRA**
Data: 20/12/2024 15:40:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dedico este trabalho aos meus avós **Júlia e Takeaki**,
que são a minha inspiração e exemplo de caráter, bondade, amor e sabedoria.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por guiar o meu caminho e ser a luz da minha vida, guardando-me e intercedendo sempre por mim, com seu amor e com sua graça e bondade infinita.

À minha família, em especial aos meus avós, aos quais dedico esse trabalho, por serem o meu maior exemplo de caráter e sabedoria, pelos ensinamentos, por todo amor a mim dedicado ao longo de toda a minha criação, bem como pelo encorajamento e, principalmente, por terem acreditado em meu potencial e sonhado comigo essa conquista! Agradeço também, em especial, aos meus irmãos Victor e Lucas, aos quais espero encorajar na jornada acadêmica e na busca pela realização de seus sonhos e objetivos.

À Mayara e ao Kauan, por todo apoio, carinho e companheirismo; ao Rhuan pela maestria e profissionalismo; à tia Sueko, Marisa e Eliana, por todo incentivo. Agradeço a todos por acreditarem na minha competência e seriedade.

Ao Prof. Dr. Cesar Fabiano Fioriti, o qual tenho grande estima, por sua excelência, orientações e aconselhamentos, por ter me acompanhado e acreditado em meu potencial ao longo de toda a minha jornada acadêmica, desde a graduação. Sou extremamente grata pela disposição de sempre, compreensão e amparo em todos os momentos. Agradeço, também, pela parceria acadêmica e pela oportunidade de fazer parte e poder contribuir com o grupo de pesquisa Manifestações Patológicas em Edificações (MAPE) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo (IFSP) pelo apoio e pela concessão do Afastamento para Qualificação.

Aos colegas do IFSP, Aline e Lucas, aos quais tenho grande estima, por todo apoio, incentivo, companheirismo e parceria acadêmica, bem como por compartilharmos experiências e aprendizados.

À minha orientadora Profa. Dra. Glaucia Amorim Faria e ao meu coorientador Prof. Dr. Antonio Flávio Arruda Ferreira, pelas orientações, ensinamentos e competência. Sou muito grata por todo o incentivo e respaldo. Agradeço, também, por acreditarem no meu potencial e seriedade, o apoio e a confiança em mim depositada, bem como pelas vivências compartilhadas e parceria acadêmica.

À Universidade Estadual Paulista (UNESP) e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGA) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Engenharia, Ilha Solteira.

Ao Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Engenharia, Ilha Solteira, e a todos os seus respectivos membros, em especial ao membro da equipe Otavio pelo incentivo, parceria e experiências compartilhadas.

Ao Laboratório de Estatística Aplicada (LEA), da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Engenharia, Ilha Solteira, e aos membros Tais e Vinicius, assim como todos os demais membros da equipe.

Dessa forma, sou imensamente grata por tudo!

“Tudo posso naquele que me fortalece”
(Filipenses 4:13).

RESUMO

O Cerrado brasileiro abrange uma ampla diversidade vegetal, dentre a qual as orquídeas são evidenciadas por sua exuberância, sobretudo as pertencentes ao gênero *Cattleya* Lindl. As orquídeas apresentam elevado potencial ornamental e paisagístico, além de propriedades medicinais e farmacológicas, sendo relevantes para o mercado de flores. A orquídea endêmica *Cattleya nobilior* var. *amaliae* Pabst é uma subespécie de *Cattleya nobilior* Rchb.f., e ocorre no Cerrado, dos estados de Tocantins, Bahia e Goiás. A orquídea *Cattleya cernua* (Lindl.) Van den Berg é nativa dos biomas brasileiros como Cerrado, Floresta Atlântica, Pampa e Caatinga. Diante da coleta extrativista de orquídeas, bem como de suas características singulares, é fundamental a existência de estudos que visem o estabelecimento de protocolos de cultivo *in vitro* específicos para cada espécie, contribuindo para a sua propagação, conservação e aplicação no paisagismo. Portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito de diferentes concentrações de sais do meio MS (25, 50, 75 e 100%) e doses de sacarose (10, 20, 30 e 40 g L⁻¹) no crescimento *in vitro* de ambas as espécies de orquídeas, bem como investigar o efeito da adição (10, 20, 30, 40, e 50 g L⁻¹) de diferentes farinhas naturais (baru, caju e coco) aos meios de cultura; e avaliar também, o efeito de diferentes doses de adubação (0; 0,5; 1; 1,5; 2 e 2,5 g planta⁻¹) e substratos (esfagno e pó de coco) na aclimação das espécies de orquídeas estudadas. Aos 120 dias foram avaliados o comprimento da parte aérea, o número de folhas, de pseudobulbos e de raízes e o comprimento da maior raiz, para o experimento com diferentes concentrações de sais do meio MS e doses de sacarose e para o experimento com adição de farinhas naturais ao meio de cultivo. Em relação ao experimento realizado na fase de aclimação, avaliou-se aos 120 dias, a porcentagem de sobrevivência, o número de folhas, de raízes e de pseudobulbos e a massa fresca. Desta forma, concluiu-se que houve influência das concentrações do meio MS e das doses de sacarose, assim como também das farinhas naturais adicionadas aos meios de cultura no crescimento *in vitro* de *Cattleya nobilior* var. *amaliae* e *Cattleya cernua*. Na aclimação de ambas as espécies ornamentais, também houve influência dos substratos e das doses de adubação. Portanto, fica evidente que cada espécie de orquídea apresenta demandas de nutrientes e de substratos específicas, sendo necessária a obtenção de protocolos de cultivo *in vitro* específicos e eficazes para cada espécie.

Palavras-chave: *Cattleya* spp.; plantas propagação; aclimação (plantas); orquídeas; plantas ornamentais.

ABSTRACT

The Brazilian Cerrado encompasses a wide diversity of plants, among which orchids stand out for their exuberance, especially those belonging to the genus *Cattleya* Lindl. Orchids have high ornamental and landscaping potential, in addition to medicinal and pharmacological properties, and are relevant to the flower market. The endemic orchid *Cattleya nobilior* var. *amaliae* Pabst is a subspecies of *Cattleya nobilior* Rehb.f., and occurs in the Cerrado, in the states of Tocantins, Bahia and Goiás. The orchid *Cattleya cernua* (Lindl.) Van den Berg is native to Brazilian biomes such as the Cerrado, Atlantic Forest, Pampa and Caatinga. Given the extractive collection of orchids, as well as their unique characteristics, it is essential to have studies aimed at establishing specific *in vitro* cultivation protocols for each species, contributing to their propagation, conservation and application in landscaping. Therefore, the present study aims to evaluate the effect of different concentrations of MS medium salts (25, 50, 75 and 100%) and sucrose doses (10, 20, 30 and 40 g L⁻¹) on the *in vitro* growth of both orchid species, as well as to investigate the effect of the addition (10, 20, 30, 40, and 50 g L⁻¹) of different natural flours (baru, cashew and coconut) to the culture medium; and also to evaluate the effect of different fertilizer doses (0; 0.5; 1; 1.5; 2 and 2.5 g plant⁻¹) and substrates (sphagnum and coconut powder) on the acclimatization of the studied orchid species. At 120 days, the length of the aerial part, the number of leaves, pseudobulbs and roots and the length of the largest root were evaluated for the experiment with different concentrations of salts in the MS medium and sucrose doses and for the experiment with the addition of natural flours to the culture medium. Regarding the experiment carried out in the acclimation phase, at 120 days, the survival percentage, the number of leaves, roots and pseudobulbs and the fresh mass were evaluated. Thus, it was concluded that there was an influence of the concentrations of the MS medium and the sucrose doses, as well as of the natural flours added to the culture medium on the *in vitro* growth of *Cattleya nobilior* var. *amaliae* and *Cattleya cernua*. In the acclimation of both ornamental species, there was also an influence of the substrates and fertilizer doses. Therefore, it is evident that each orchid species has specific nutrient and substrate demands, and it is necessary to obtain specific and effective *in vitro* cultivation protocols for each species.

Keywords: *Cattleya* spp.; plant propagation; acclimatization (plants); orchids; ornamental plants.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	CLASSIFICAÇÃO, DESCRIÇÃO BOTÂNICA, ORIGEM E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA	12
1.2	MÉTODOS DE MULTIPLICAÇÃO E CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS.....	16
1.3	MEIOS DE CULTIVO.....	18
1.4	ACLIMATAÇÃO	20
	REFERÊNCIAS	24
2	<i>Cattleya nobilior</i> var. <i>amaliae</i>: interação entre doses de sacarose e concentrações de meio MS no crescimento <i>in vitro</i>	29
2.1	INTRODUÇÃO.....	30
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	32
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
2.4	CONCLUSÃO.....	42
	AGRADECIMENTOS	42
	REFERÊNCIAS	42
3	<i>Cattleya cernua</i>: interação entre doses de sacarose e concentrações de meio MS no crescimento <i>in vitro</i>	45
3.1	INTRODUÇÃO.....	46
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	48
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
3.4	CONCLUSÃO.....	56
	AGRADECIMENTOS	56
	REFERÊNCIAS	56
4	ADIÇÃO DE FARINHAS NATURAIS AO MEIO DE CULTURA INFLUENCIA O CRESCIMENTO <i>IN VITRO</i> DE <i>Cattleya nobilior</i> var. <i>amaliae</i>?	59
4.1	INTRODUÇÃO.....	60
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	62
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
4.4	CONCLUSÃO.....	69
	AGRADECIMENTOS	70
	REFERÊNCIAS	70

5	ADIÇÃO DE FARINHAS NATURAIS AO MEIO DE CULTURA INFLUENCIA O CRESCIMENTO <i>IN VITRO</i> DE <i>Cattleya cernua</i>?	73
5.1	INTRODUÇÃO.....	74
5.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	76
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
5.4	CONCLUSÃO.....	83
	AGRADECIMENTOS	83
	REFERÊNCIAS	83
6	A ACLIMATAÇÃO DE <i>Cattleya nobilior</i> var. <i>amaliae</i> É INFLUENCIADA PELO TIPO DE SUBSTRATO E DOSES DE ADUBAÇÃO?	86
6.1	INTRODUÇÃO.....	87
6.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	89
6.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	91
6.4	CONCLUSÃO.....	97
	AGRADECIMENTOS	97
	REFERÊNCIAS	97
7	A ACLIMATAÇÃO DE <i>Cattleya cernua</i> É INFLUENCIADA PELO TIPO DE SUBSTRATO E DOSES DE ADUBAÇÃO?	100
7.1	INTRODUÇÃO.....	101
7.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	104
7.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	105
7.4	CONCLUSÃO.....	112
	AGRADECIMENTOS	112
	REFERÊNCIAS	112
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	116

1 INTRODUÇÃO

1.1 CLASSIFICAÇÃO, DESCRIÇÃO BOTÂNICA, ORIGEM E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

O Cerrado possui uma grande diversidade vegetal, dentre a qual destacam-se as orquídeas. As orquídeas são consideradas importantes plantas ornamentais, de grande interesse econômico e botânico, devido à sua beleza, exuberância de suas flores, bem como sua diversidade de formas, tamanhos, cores e fragrâncias. Desse modo, são relevantes para o mercado de flores, sendo bastante comercializadas na atualidade e representando cerca de 10% do comércio internacional. Além de seu elevado potencial ornamental, várias espécies de orquídeas também possuem propriedades medicinais e farmacológicas. Ademais, espécies epífitas podem atuar como bioindicadoras do estágio sucessional da floresta, uma vez que comunidades em fases secundárias apresentam menor diversidade epífita do que aquelas em equilíbrio dinâmico, podendo, desta forma, contribuir com estudos de processos ecológicos e de reintrodução em ambientes em restauração (Paula; Silva, 2006; Schneiders *et al.*, 2012; Tejeda-Sartorius *et al.*, 2018; Lemes *et al.*, 2020; Lemos *et al.*, 2020; Mercado; Delgado, 2020; Magalhães, 2021; Oliveira *et al.*, 2021; Paulino *et al.*, 2021; Nongdam *et al.*, 2023).

As orquídeas são encontradas em vários habitats, em sua maioria, cerca de 70%, presas a troncos de árvores em florestas como epífitas, crescendo à sombra e compreendendo quase dois terços da flora epífita do mundo. Os 25% restantes são terrestres e os 5% são encontrados em vários sistemas de suporte (Utami; Hariyanto, 2020). As orquídeas são plantas pertencentes à família Orchidaceae A. Juss., maior grupo dentre as angiospermas, que conta com cerca de 800 gêneros, 35 mil espécies e mais de 120 mil híbridos naturais e artificiais (Aquino; Couto; Araújo, 2021). No Brasil, há registros de cerca de 235 gêneros e já foram identificadas em torno de 3,5 mil espécies (Aquino; Couto; Araújo, 2021; Silva *et al.*, 2021). Em especial, destaca-se o gênero *Cattleya* Lindl., que está entre os gêneros mais comercializados no Brasil, e que agrupa cerca de 70 espécies e milhares de híbridos naturais e artificiais. Este gênero vem se destacando por suas espécies muito vistosas que apresentam flores grandes e coloridas, e têm despertado o interesse de orquidicultores nacionais e internacionais (Hsu, 2003; Paula; Silva, 2006; Schneiders *et al.*, 2012; Nardelli *et al.*, 2020; Utami; Hariyanto, 2020; Aquino; Couto; Araújo, 2021; Freitas *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2021; Nongdam *et al.*, 2023).

A espécie *Cattleya nobilior* Rchb.f. apresenta hábito epifítico e rupícola, folhas elípticas ou oblongas, e seus pseudobulbos possuem comprimento variando de 5 a 10 cm ou de 10 até

30 cm. Cada inflorescência apresenta de uma a três flores, que podem apresentar diversas colorações, indo do rosa escuro ao rosa claro, ou lilás (Van Den Berg, 2024a). A *Cattleya nobilior* var. *amaliae* Pabst é uma subespécie que se diferencia pela floração mais tardia, labelo mais claro com veias mais marcadas e longas, e com pétalas e sépalas também mais claras (Figura 1). Essa subespécie é endêmica do Brasil, ocorrendo no bioma Cerrado dos estados de Tocantins, Bahia e Goiás (Figura 2) (Van Den Berg, 2024b).

Figura 1 – Taxonomia (A) e imagem de campo da *Cattleya nobilior* var. *amaliae* (B)



Fonte: adaptado de Van Den Berg (2024b).

Figura 2 – Distribuição geográfica da *Cattleya nobilior* var. *amaliae*



Fonte: Van Den Berg (2024b).

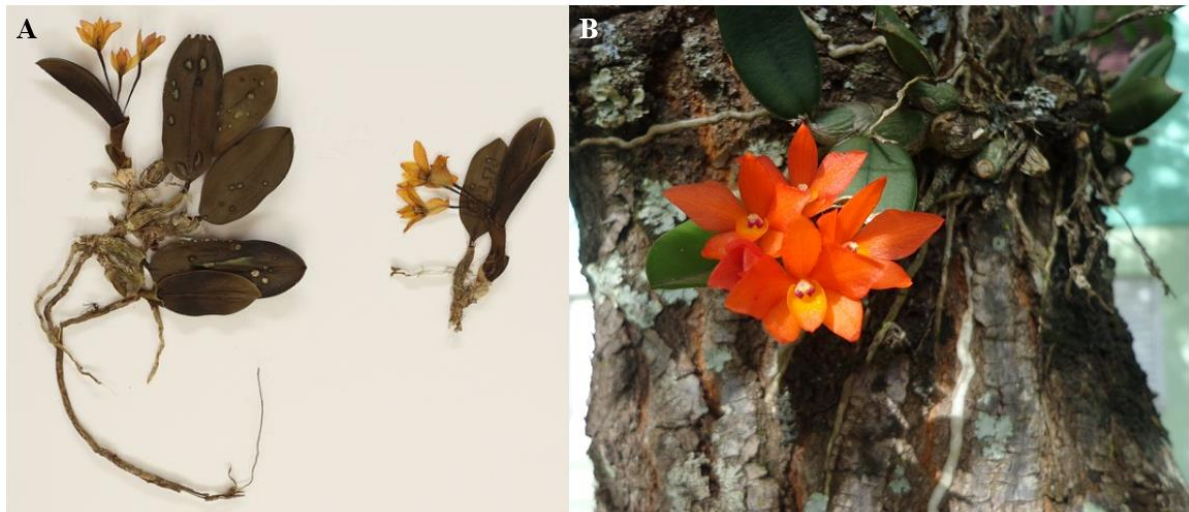
A *Cattleya cernua* (Lindl.) Van den Berg é uma espécie de ampla distribuição, ocorrendo nos biomas Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga e Pampa; dos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Goiás e Distrito Federal (Figura 3). Esta espécie é uma erva epífita, que possui folhas obovadas, e pseudobulbos com comprimento variando de 0,1 a 5 cm. Cada inflorescência apresenta de uma a até mais de dez flores, que podem apresentar coloração laranja ou laranja amarelado (Figura 4) (Van Den Berg, 2024c).

Figura 3 – Distribuição geográfica da *Cattleya cernua*



Fonte: Van Den Berg (2024c).

Figura 4 – Taxonomia (A) e imagem de campo da *Cattleya cernua* (B)



Fonte: adaptado de Re flora (2024) (A) e Richit (2024) (B).

A exuberância das espécies de orquídeas nativas e endêmicas do Brasil contribui para o seu relevante potencial ornamental e paisagístico. A utilização de espécies nativas é um diferencial em projetos paisagísticos e tem-se expandido em virtude de sua praticidade e sustentabilidade em comparação com as espécies exóticas, adaptando-se melhor às condições ambientais e atendendo às demandas e expectativas dos projetos de paisagismo, além de ser também uma estratégia para a conservação dessas espécies (Soares *et al.*, 2020; Castro *et al.*, 2022; Ribeiro *et al.*, 2024).

Devido ao seu elevado potencial ornamental e comercial, bem como à coleta comercial não regulamentada, o desmatamento e a destruição maciça de habitats; que por sua vez, têm se agravado com o crescimento urbano, aumento das atividades agrícolas e extrativismos predatórios, a população de orquídeas teve uma acentuada redução em seus habitats naturais (Soares *et al.*, 2012; Paulino *et al.*, 2021; Nongdam *et al.*, 2023). Ademais, o interesse por orquídeas nativas brasileiras tem sido elevado, não apenas por parte dos colecionadores, mas também em função dos programas de melhoramento e de reintrodução das espécies em seus habitats. Desse modo, a preocupante redução da população de orquídeas propiciou que toda a família fosse coberta pelo Apêndice II da Convenção sobre o Comércio Internacional de Espécies Ameaçadas de Fauna e Flora Selvagens (CITES – *Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*). Assim como, elas também estão entre os grupos taxonômicos mais ameaçados, com mais de 600 espécies de orquídeas listadas como ameaçadas na Lista Vermelha da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN – *International Union for Conservation of Nature*) (Soares *et al.*, 2012; Paulino *et al.*, 2021; Nongdam *et al.*, 2023).

A conservação das orquídeas tem despertado elevado interesse e importância no cenário mundial diante das diversas ameaças sofridas por sua exuberância, características ornamentais, relevância econômica e conseqüente retirada excessiva da natureza. As técnicas de cultivo *in vitro* desempenham um papel de destaque, não somente na propagação para fins comerciais, mas também na conservação de plantas ameaçadas, uma vez que promovem altas taxas de germinação e formação de mudas em um curto período. A produção comercial de orquídeas por meio da multiplicação seminífera nem sempre é eficaz, pois é lenta e trabalhosa. Sendo assim, as técnicas de cultivo *in vitro* têm sido utilizadas para a propagação de orquídeas, estudo de aspectos fisiológicos relacionados ao crescimento e desenvolvimento, bem como um método de conservação *ex situ* para a redução do risco de extinção (Mercado; Delgado, 2020; Simioni *et al.*, 2021; Nongdam *et al.*, 2023).

Desse modo, pesquisas com plantas ornamentais nativas são cada vez mais essenciais para a sua propagação e conservação. Além disso, é importante compreender as demandas nutricionais e de substrato, de modo a obter protocolos específicos e eficazes, diante das especificidades da grande quantidade de espécies de orquídeas (Soares *et al.*, 2020; Castro *et al.*, 2022; Ribeiro *et al.*, 2024).

1.2 MÉTODOS DE MULTIPLICAÇÃO E CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS

É sabido que as orquídeas estão entre as plantas mais ameaçadas, cujas principais causas da redução de suas populações naturais são a coleta excessiva, o comércio ilegal, a pressão da população humana e a consequente destruição de seu habitat. Ademais, a baixa taxa de regeneração, o crescimento lento e a baixa germinação das sementes, também contribuem para que a conservação das orquídeas seja motivo de preocupação global (Maharjan *et al.*, 2020). Uma alternativa que pode contribuir com a restauração de populações naturais é a formação de bancos de germoplasma com manutenção da variabilidade genética. Desse modo, a germinação *in vitro* de orquídeas se apresenta como um meio de produzir plantas para serem utilizadas em programas de reintrodução de espécies em áreas naturais (Lemes *et al.*, 2020; Maharjan *et al.*, 2020).

A propagação de orquídeas, em condições naturais, é dada pelo desenvolvimento de gemas laterais que vão formando clones ou pela disseminação das sementes que, por serem desprovidas de endosperma, dependem da associação com fungos micorrízicos específicos de cada espécie para germinação e desenvolvimento inicial. Além da falta de endosperma, o tamanho diminuto da semente e os baixos teores de lipídios e proteínas a serem consumidos no processo de germinação, também contribuem para dificultar a sua multiplicação em condições naturais. Ademais, embora sejam produzidas em grandes quantidades por cápsulas, a baixa reserva nutricional torna a sua taxa de germinação relativamente baixa na natureza (menor que 5%) (Soares *et al.*, 2012; Assis *et al.*, 2020; Mercado; Delgado, 2020; Utami; Hariyanto, 2020).

As orquídeas também se destacam por apresentar um desenvolvimento vegetativo lento, tendo em vista que a divisão da muda necessita de dois anos, no mínimo, dificultando a produção comercial de mudas. Sendo assim, o cultivo de sementes em meio de cultura é uma ferramenta biotecnológica que possibilita a elevação da taxa de germinação, permitindo que o processo de multiplicação de orquídeas seja comercialmente viável. Além disso, sementes cultivadas *in vitro* podem se desenvolver em mudas completas sem a dependência de fungos (Utami; Hariyanto, 2020). Portanto, ao viabilizar a produção comercial de orquídeas, há

também uma contribuição para a preservação de espécies em extinção, bem como para a multiplicação de grande número de plantas com elevada qualidade e em um curto período. Sendo assim, a germinação *in vitro* de sementes de orquídeas torna-se um aspecto fundamental nos programas de conservação e propagação (Assis *et al.*, 2020; Utami; Hariyanto, 2020; Simioni *et al.*, 2021).

A multiplicação de orquídeas pode ocorrer por meio de duas vias, sendo elas a sexuada e a assexuada. A reprodução por sementes (via sexuada) é utilizada quando se necessita obter a variabilidade genética, crucial em programas de conservação. A propagação (via assexuada) é tradicionalmente utilizada para produção de clones de plantas melhoradas, para fins ornamentais e comerciais, e leva em consideração os princípios da totipotencialidade e da regeneração celular, permitindo, assim, a formação de plantas provenientes de uma matriz em comum (Herrmann; Freitas; Périco, 2011; Ferreira *et al.*, 2019; Mercado; Delgado, 2020).

A cultura de tecidos vegetais é considerada uma alternativa para a produção e multiplicação de plantas, bem como para a conservação de espécies em cultivo asséptico e condições controladas de temperatura, luminosidade, fotoperíodo e nutrição, trazendo benefícios para a conservação *in vitro*, em função da maior proteção contra ações ambientais e otimização do espaço físico. Dentre as técnicas de multiplicação vegetal via assexuada encontram-se a cultura de protoplasmas, a cultura de material desorganizado, a cultura de anteras e a micropropagação. A micropropagação, também denominada propagação *in vitro*, é considerada a aplicação mais prática da cultura de tecidos, bem como a de maior impacto, objetivando o abastecimento do mercado e a preservação de espécies ameaçadas de extinção (Grattapaglia; Machado, 1998; Herrmann; Freitas; Périco, 2011; Mercado; Delgado, 2020).

Todavia, é importante salientar que este método tem como desvantagem a variação somaclonal, a perda de caracteres devido à intensa multiplicação, o elevado custo de produção e as dificuldades técnicas de aclimação (Soares *et al.*, 2017; Corrêa *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2021).

A cultura de tecidos divide-se em três etapas, sendo elas: a seleção, a desinfestação e o estabelecimento do explante em meio nutritivo; a fase de multiplicação por meio de sucessivas subculturas em meio específico para a multiplicação; e a fase de enraizamento e transferência das plantas obtidas para o ambiente externo. Vale destacar que, estes estágios podem ser alterados de acordo com as especificidades de cada espécie, não necessitando ser necessariamente seguidos. E, sabe-se que vários fatores podem influenciar o crescimento e o desenvolvimento das plantas durante essas etapas, como o meio de cultivo utilizado, a orientação dos explantes e as condições do ambiente de cultivo (Grattapaglia; Machado, 1998).

1.3 MEIOS DE CULTIVO

O resultado satisfatório do cultivo *in vitro* é frequentemente determinado pela origem do explante e meio nutritivo onde são cultivados. Os meios de cultivo utilizados para a cultura de células, tecidos e órgãos de plantas são responsáveis pelo fornecimento das substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos e, em grande parte, controlam o padrão de desenvolvimento *in vitro*. A compreensão das exigências nutricionais da espécie em cultivo é determinante para o seu sucesso no desenvolvimento *in vitro*. Sendo assim, a formulação do meio de cultura é essencial para a planta, de modo que o mesmo pode ser formulado com diferentes combinações conforme as demandas de cada espécie (Caldas; Haridasan; Ferreira, 1998; Faria *et al.*, 2002; Assis *et al.*, 2020).

Dentre os meios de cultivo tradicionalmente utilizados em orquídeas, pode-se citar o meio Knudson (1946), o meio Vacin e Went (1949) e o meio MS de Murashige e Skoog (1962), de modo que cada meio é identificado por sua concentração e composição específica de sais minerais, vitaminas, reguladores de crescimento, entre outros suplementos orgânicos (Knudson, 1946; Vacin; Went, 1949; Murashige; Skoog, 1962; Assis *et al.*, 2020; Aquino; Couto; Araújo, 2021; Nongdam *et al.*, 2023).

O meio MS de Murashige e Skoog (1962) é um dos meios mais utilizados no cultivo *in vitro* de orquídeas. Embora, cada espécie de orquídea demande um método específico de produção rápida e em larga escala, o meio MS tem sido amplamente utilizado para a germinação e crescimento de diversas espécies dessa família, possibilitando resultados satisfatórios por conter sais inorgânicos, vitaminas, aminoácidos, carboidratos e altas concentrações de nutrientes (Tabela 1) (Caldas; Haridasan; Ferreira, 1998; Mercado; Delgado, 2020; Aquino, Couto; Araújo, 2021; Nongdam *et al.*, 2023).

Tabela 1 – Composição do meio MS para macronutrientes, micronutrientes e compostos orgânicos

COMPONENTES	MEIO MS
MACRONUTRIENTES	
	mg L⁻¹
CaCl ₂ .2H ₂ O	440,00
KH ₂ PO ₄	170,00
KNO ₃	1900,00
MgSO ₄ .7H ₂ O	370,00
NH ₄ NO ₃	1650,00
MICRONUTRIENTES	
	mg L⁻¹
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
H ₃ BO ₃	6,20
KI	0,83
MnSO ₄ .4H ₂ O	22,30
H ₂ MoO ₄ .H ₂ O	0,25
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	8,60
ZnSO ₄ .7H ₂ O	27,80
Fe(SO ₄).7H ₂ O	37,20
ORGÂNICOS	
	mg L⁻¹
Ácido nicotínico	0,50
Glicina	2,00
Mio-inositol	100,00
Piridoxina	0,50
Tiamina	0,10

Fonte: adaptado de Caldas, Haridasan e Ferreira (1998).

A composição básica dos meios integra: água, macronutrientes, micronutrientes, carboidratos, vitaminas, mio-inositol, podendo conter também reguladores de crescimento, misturas complexas como extratos vegetais e água de coco e outros aditivos, como os antibióticos, aminoácidos, antioxidantes e, se for preparado sólido, acrescenta-se ágar. Os macronutrientes são fornecidos ao meio de cultivo na forma de sais, contendo nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S). Os micronutrientes contêm ferro (Fe), manganês (Mn), boro (B), cobre (Cu), zinco (Zn) e molibdênio (Mo), além do cobalto (Co) e o iodo (I). As vitaminas mais utilizadas são tiamina (vitamina B1), piridoxina, ácido nicotínico (niacina), vitamina B6 e o mio-inositol que é considerado um estimulador de processos de crescimento *in vitro* e pode servir como fonte de carboidratos para a propagação de culturas *in vitro* (Caldas; Haridasan; Ferreira, 1998).

A fonte comum de carbono é a sacarose, que pode ser total ou parcialmente hidrolisada em glucose ou frutose; além de outros carboidratos, como a maltose, galactose, amido e lactose. A sacarose é o carboidrato mais utilizado em meios de cultivo voltados para a propagação *in vitro* de plantas ornamentais, atuando como fonte de energia e carbono para a biossíntese de

componentes estruturais e funcionais. Ademais, é também o carboidrato mais comum encontrado na seiva do floema e envolvido no controle de vários processos de desenvolvimento. Na composição dos meios de cultura sua concentração pode chegar a 40 g L⁻¹; sendo ainda, indicado as concentrações de 10 e 20 g L⁻¹ para a propagação *in vitro* de híbridos similares do gênero *Cattleya* Lindl. (Caldas; Haridasan; Ferreira, 1998; Zahara *et al.*, 2017; Aquino, Couto; Araújo, 2021; Paulino *et al.*, 2021; Sasamori *et al.*, 2021).

O uso do carvão ativado no meio de cultivo possibilita um melhor crescimento e desenvolvimento da planta *in vitro*, uma vez que é um estimulador de enraizamento e diminuidor da intoxicação da planta por compostos fenólicos. Desse modo, ao ser adicionado ao meio nutritivo tem a capacidade de absorver substâncias tóxicas liberadas pelos explantes ou impurezas de outros componentes, sendo comumente utilizado na propagação de orquídeas *in vitro* (Machado; Zamarian, 2020).

A utilização de meios alternativos por meio da adição de suplementos orgânicos no meio de cultura, como por exemplo, banana homogeneizada, batata homogeneizada, suco de abacaxi e água de coco, tem sido promissora na germinação de sementes e no crescimento *in vitro* de algumas espécies de orquídeas. Essa alternativa tem o intuito de simplificar as técnicas de cultura de tecidos vegetais, tornando a propagação mais acessível aos produtores e orquidófilos. Apesar das informações limitadas sobre os efeitos dos aditivos orgânicos, bem como da complexidade em analisar precisamente as suas composições, tais aditivos possibilitam uma variedade de componentes que favorecem as culturas *in vitro*, como por exemplo o “Híbrido Flor Grande” (HFG) (*Cattleya labiata* rubra x *Cattleya labiata* semi alba) e o híbrido *Laeliocattleya* Richard Muller (Mercado; Delgado, 2020; Aquino; Couto; Araújo, 2021; Nongdam *et al.*, 2023).

Por conseguinte, é importante destacar que, a composição do meio de cultivo não possui efeito apenas nutritivo, ela também influencia o crescimento celular e a morfogênese por meio de propriedades osmóticas. Sendo assim, o êxito na geração e disseminação de plantas no cultivo *in vitro* depende não somente das condições físicas de germinação e do estado da semente, como sua maturidade e origem da cápsula; mas, sobretudo, da composição do meio de cultivo (Ferreira *et al.*, 2019; Mercado; Delgado, 2020).

1.4 ACLIMATAÇÃO

A aclimação, última fase da propagação *in vitro*, é considerada uma etapa crítica, tendo em vista que representa, em muitos casos, as maiores perdas no cultivo de várias espécies.

Nesta etapa, as plântulas são transferidas das condições controladas para o ambiente *ex vitro*, comumente para condições de casa de vegetação, controlando os fatores que possam limitar o seu desenvolvimento e interferir na sua sobrevivência, como temperatura, umidade, luminosidade, nutrientes e substrato (Colombo *et al.*, 2005; Vicente; Araujo, 2020; Magalhães, 2021).

A fase de aclimação é tratada como crítica em função do estresse hídrico, resultante da elevada taxa de transpiração das plantas durante a transferência para a condição *ex vitro*; a taxa fotossintética, que é normalmente limitada nas plantas *in vitro* pela reduzida intensidade luminosa, baixa concentração de gás carbônico (CO₂) no recipiente de cultivo e presença de sacarose no meio de cultura; a absorção de nutrientes, uma vez que na condição *in vitro* a planta possui uma alta disponibilidade de nutrientes no meio e ao passar para a condição *ex vitro* a mesma necessita incrementar a absorção de sais; e fitossanidade, visto que a planta passa de um ambiente asséptico (*in vitro*) para outro (*ex vitro*), estando neste, suscetível a microrganismos saprofitos e, porventura, patogênicos (Grattapaglia; Machado, 1998; Vicente; Araujo, 2020).

Vale ressaltar que, na aclimação, as plantas passam por adaptações anatômicas, morfológicas e bioquímicas, alterando os processos fisiológicos até então adaptados para as condições de sobrevivência *in vitro* (Colombo *et al.*, 2005; Vicente; Araujo, 2020). Desse modo, é fundamental que a plântula esteja em um substrato que permita o seu estabelecimento vegetativo e que lhe proporcione condições satisfatórias para o seu melhor desenvolvimento (Colombo *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2014; Zandoná *et al.*, 2014).

O substrato deve apresentar características apropriadas quanto a aeração; permeabilidade; poder de tamponamento para valores de pH; economia hídrica, de modo a reter água sem encharcar; e capacidade de reter nutrientes, possibilitando condições favoráveis ao crescimento e florescimento das plantas. Além disso, também é desejável que o substrato seja isento de propágulos de plantas daninhas, microrganismos nocivos e substâncias tóxicas; que apresente propriedades físicas e químicas estáveis quando submetido a tratamentos de esterilização; e que não altere suas propriedades ao ser armazenado por tempo prolongado (Colombo *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2014; Zandoná *et al.*, 2014).

No cultivo de orquídeas, principalmente as epífitas e rupícolas, é primordial o uso de substratos, posto que o uso do solo pode propiciar problemas fitossanitários e condições desfavoráveis de umidade e arejamento para o desenvolvimento e crescimento. Ademais, para essa cultura, o substrato desempenha também a função de suporte para o sistema radicular das plantas, regulando a disponibilidade de água e nutrientes para as raízes. Um dos substratos mais utilizados por viveiristas na aclimação de orquídeas são: o esfagno, casca de pinus, fibra de

coco (desfibrada ou prensada), pó de coco, fibra de piaçava e casca de arroz carbonizada, que são de origem vegetal; a vermiculita, carvão vegetal, argila expandida rígida, pedra brita e tijolo, que são de origem mineral; e os sintéticos como o poliestireno expandido e a espuma fenólica; entre outros substratos (Colombo *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2014; Zandoná *et al.*, 2014).

Cabe destacar que, o desenvolvimento das plantas também depende da composição química e física do substrato e está relacionado com a fisiologia e demanda de cada espécie, bem como o tipo de ambiente que se pretende cultivá-la. Em locais com umidade e temperatura controlados, por exemplo em casas de vegetação, o substrato não exerce tanta influência no desenvolvimento das plantas se comparado aos locais onde não se tem o controle desses fatores, e que por sua vez, seja importante se atentar ainda mais para a capacidade de retenção água do substrato, sobretudo em locais de clima quente (Colombo *et al.*, 2005; Rolon *et al.*, 2021).

Na etapa de aclimação, com o intuito de suprir as demandas iniciais da planta, é comum a utilização de adubo granulado ao substrato, como por exemplo, os de liberação controlada. A depender do período requerido para o crescimento da cultura, podem ser feitas também adubações com soluções nutritivas em cobertura por aplicações foliares ou via irrigação. Dessa forma, o uso desses aditivos pode ser considerado uma alternativa para a produção de plantas, pois são solúveis e agrupados em grânulos recobertos por resina orgânica ou elástica (Paula *et al.*, 2020; Cunha *et al.*, 2021).

Em comparação com os adubos convencionais, os adubos de liberação lenta ou controlada apresentam uma eficiência superior em função de características como: a retardação da disponibilidade de nutrientes para a planta, fato que diminui suas perdas para o ambiente e eleva o sincronismo com a sua demanda pela planta, mantendo as plantas nutridas constantemente durante todo o seu período de desenvolvimento; a minimização de problemas com a queima das raízes por excesso de adubação; e a diminuição da salinidade do substrato (Paula *et al.*, 2020; Cunha *et al.*, 2021).

O adubo de liberação controlada é produzido em diferentes formulações, composto principalmente por nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K); e também é possível encontrar em sua composição, em menores quantidades, enxofre (S), magnésio (Mg), ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu), zinco (Zn), boro (B) e molibdênio (Mo). Esses são caracterizados como adubos inteligentes, com capacidade de liberação de nutrientes para a planta por um longo período e com um elevado nível de tecnologia. Ademais, podem ser utilizados em diversas culturas agrícolas, em jardins e plantios florestais, e na produção de mudas de plantas ornamentais, frutíferas e olerícolas. Em orquídeas, por exemplo, foi verificado um favorecimento do uso de Osmocote® no cultivo e desenvolvimento da espécie

Laelia pulcherrima, além da importância da escolha de um substrato adequado (Wang, 2010; Figueiredo; Kolb, 2013; Paula *et al.*, 2020; Cunha *et al.*, 2021).

REFERÊNCIAS

- AQUINO, E. L.; COUTO, T. R.; ARAÚJO, J. S. P. Banana pulp and sucrose on *in vitro* development of orchids. **Agrária Acadêmica**, [s. l], v. 4, n. 2, p.70-77, 2021. DOI: <https://doi.org/10.32406/v4n2/2021/70-77/agrariacad>.
- ASSIS, K. C. C. *et al.* Growth *in vitro* of *Schomburgkia crispa* Lindley in the increased culture of *Salvia hispanica* L. **Engenharia de Biosistemas**, Tupã, v. 14, n. 4, p. 342-350, 2020. DOI: <https://doi.org/10.18011/bioeng2020v14n4p342-350>.
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. *In*: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, 1998. v. 1, n. 1, p. 87-132.
- CASTRO, A. C. R. *et al.* Brazilian ornamental phylogenetic resources in Embrapa germplasm banks: obstacles and opportunities. **Ornamental Horticulture**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 396-406, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v28i4.2549>.
- COLOMBO, L. A. *et al.* Aclimatização de um híbrido de *Cattleya* em substratos de origem vegetal sob dois sistemas de irrigação. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 1, p. 145-150, 2005.
- CORRÊA, D. O. *et al.* Microalgas na agricultura moderna: utilização do extrato de *Desmodemus subspicatus* na propagação *in vitro* da orquídea *Cattleya warneri*. *In*: SEVERO, I. A.; NASCIMENTO, T. C.; FAGUNDES, M. B. **Microalgas: potenciais, aplicações e desafios**. Canoas: Mérida Publishers, 2021. p. 63-86. DOI: <https://doi.org/10.4322/mp.978-65-994457-8-1.c3>.
- CUNHA, F. L. *et al.* Uso dos adubos de liberação lenta no setor florestal. **Pesquisa Florestal Brasileira, Colombo**, v. 41, p. 1-11, 2021. DOI: <https://doi.org/10.4336/2021.pfb.41e201902063>.
- FARIA, R. T. *et al.* Preservation of the brazilian orchid *Cattleya walkeriana* Gardner using *in vitro* propagation. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 2, n. 3, p. 489-492, 2002.
- FERREIRA, A. F. A. *et al.* Nodal segments and zygotic embryos in culture media for the *in vitro* propagation of tamarind. **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, v. 10, n. 4, p. 438-447, 2019.
- FIGUEIREDO, L. D.; KOLB, R. M. Novo substrato para o cultivo de orquídeas: estudo do seu potencial de uso em plantas de *Laelia pulcherrima*. **Biociências**, [s. l], v. 11, n. 4, p. 405-413, 2013.
- FREITAS, K. G. *et al.* M. *In vitro* growth of *Cattleya nobilior* Rchb. f.: culture media, sealing systems and irradiance. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 51, p. 1-9, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-40632021v5167131>.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. *In*: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, 1998. v. 1, n. 1, p. 183-260.

HERRMANN, M. H.; FREITAS, E. M.; PÉRICO, E. Cultivo *in vitro* de plântulas de orquídea em meio de cultura alternativo. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 17, n. 1, p. 162-166, 2011.

HSU, C. C. **Protocorm-like body induction and plant regeneration from etiolated leaves of *in vitro* Phalaenopsis**. 2003. 88 f. Tese (Doutorado em Agricultura) – Institute of Tropical Agriculture and Intl Cooperation, University of Science & Technology, Pingtung, 2003.

KNUDSON, L. A new nutrient solution for the germination of orchid seeds. **American Orchid Society Bulletin**, [s. l.], v. 15, p. 214-217, 1946.

LEMES, C. S. R. *et al.* Initial *in vitro* Establishment of the native cerrado orchid *Miltonia flavescens*. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 4, p. 1-7, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/2179-8087.022118>.

LEMOS, D. C. S. *et al.* Formation and survival of *in vitro* protocorms of cerrado orchid of Goiás. **Scientific Electronic Archives**, Sinop, v. 13, n. 6, p. 1-7, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.36560/13620201007>.

MACHADO, W.; ZAMARIAN, A. S. Polpa de banana, água de coco e carvão ativado no desenvolvimento *in vitro* de *Lycaste* sp. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, Campo Grande, v. 24, n. 2, p. 159-163, 2020. DOI: <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2020v24n2p159-163>.

MAGALHÃES, D.G. de. **Extrato da macroalga parda *Ascophyllum nodosum* no cultivo e conservação *in vitro* de plantas ornamentais da Chapada Diamantina-BA**. Orientadora: Alone Lima Brito. 2021. 50 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2021.

MAHARJAN, S. *et al.* *In vitro* Propagation of the Endangered Orchid *Dendrobium chryseum* Rolfe from Protocorms Culture. **Nepal Journal of Science and Technology**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 39-47, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3126/njst.v19i1.29737>.

MERCADO, S. A. S.; DELGADO, E. A. B. Effect of the medium composition on the asymbiotic germination and *in vitro* development of the *LaelioCattleya* hybrid. **South African Journal of Botany**, Amsterdam, v. 135, p. 80-86, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.08.011>.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v.15, p.473-497, 1962. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.

NARDELLI, M.S. *et al.* Desenvolvimento de plântulas de *Cattleya walkeriana* Gardner em diferentes meios de cultura. **Journal of Agronomic Sciences**, Ponta Grossa, v. 9, n. 1, p. 61-72, 2020.

NONGDAM, P. *et al.* Orchid micropropagation using conventional semi-solid and temporary immersion systems: a review. **Plants**, Basel, v. 12, n. 5, p. 1-32, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants12051136>.

OLIVEIRA, J. *et al.* Efficient *in vitro* plantlet development and acclimatization of *Cattleya elongata* Barb. Rodr., a Brazilian endemic and neglected species. **South African Journal of Botany**, Amsterdam, v. 141, p. 77-82, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.03.025>.

PAULA, C. C; SILVA, H. M. P. **Cultivo prático de orquídeas**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2006. 106 p. ISBN: 8572691103.

PAULA, J. C. B. *et al.* Fertilizante de liberação controlada no crescimento inicial da orquídea *Phalaenopsis* sp. **Cultura Agrônômica**, Ilha Solteira, v. 29, n. 2, p. 289-299, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.32929/2446-8355.2020v29n2p289-299>.

PAULINO, M. A. P. P. *et al.* *In vitro* development of *Cyrtopodium cachimboense* l. C. Menezes in different levels of sucharose. **Brazilian Journal of Development**, São José dos Pinhais, v. 7, n. 2, p. 18844-18860, 2021. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n2-500>.

REFLORA. **Herbário Virtual**. [S. l.]. 2024. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/herbarioVirtual/ConsultaPublicoHVUC/ConsultaPublicoHVUC.do?idTestemunho=5960827>. Acesso em: 14 nov. 2024.

RIBEIRO, I. S. *et al.* The brazilian native orchid *Brassavola tuberculata* Hook.: ornamental potential and reintroduction. **Ornamental Horticulture**, Campinas, v. 30, p. 1-7, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v30.e242768>.

RICHIT, J. F. 2024. **Flora Digital**: flora digital do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. [S. l.]. 2024. Disponível em: https://floradigital.ufsc.br/open_sp.php?img=14794. Acesso em: 14 nov. 2024.

ROLON, E. M. *et al.* Avaliação do comportamento de *Catasetum x altaflorestense* em diferentes concentrações de anticoncepcional. **Brazilian Journal of Development**, São José dos Pinhais, v. 7, n. 3, p. 31219-31229, 2021. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n3-715>.

SANTOS, A. F. **Nutrição e fertilização de orquídeas *in vitro* e em vaso**. 2014. 125f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.

SASAMORI, M. H.; ENDRES JÚNIOR, D.; DROSTE, A. Optimal conditions for *in vitro* culture of *Cattleya cernua*, a small orchid native of Atlantic Forest and Cerrado. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v.72, p. 1-12, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860202172059>

SCHNEIDERS, D. *et al.* Germinação, crescimento e desenvolvimento *in vitro* de orquídeas (*Cattleya* spp., Orchidaceae). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 2, p. 185-191, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2012000200006>

SILVA, M. F. F. *et al.* Desenvolvimento de *Catasetum schmidtianum* Miranda & Lacerda em diferentes concentrações de extrato pirolenhoso obtido de *Enterolobium contortisiliquum*. **Brazilian Journal of Development**, São José dos Pinhais, v. 7, n. 2, p. 16070-16082, 2021. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n2-299>.

SIMIONI, P. F. *et al.* Influência da canela em pó no desenvolvimento de *Catasetum x altaflorestense* Benelli & Grade. **Brazilian Journal of Development**, São José dos Pinhais, v. 7, n. 1, p. 10406-10421, 2021. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n1-707>.

SOARES, J. S.; RIBEIRO, L. M.; SORGATO, J. C. Germinação e crescimento *in vitro* de *Dendrobium nobile* Lindl. sem subcultivo em meio de cultura alternativo. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, Tupã, v. 11, n. 4, p. 365-372, 2017.

SOARES, J. S. *et al.* Cultivo *in vitro* de *Brassavola tuberculata* (Orchidaceae) em meio de cultura alternativo suplementado com diferentes concentrações de açúcar e carvão ativado. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 24, n. 3, p. 226-233, 2012.

SOARES, J. S.; SANTIAGO, E. F.; SORGATO, J. C. Conservação de *Schomburgkia crispa* Lindl. (Orchidaceae) por reintrodução em um fragmento de Cerrado brasileiro. **Journal for Nature Conservation**, Muenchen, v. 53, p. 1617-1381, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2019.125754>

TEJEDA-SARTORIUS, O. *et al.* Mineral fertilization and biofertilization in physiological parameters of the orchid *Laelia anceps* subsp. *anceps*. **Revista Chapingo Serie Horticultura**, Chapingo, v.24, n.3, p.181-190, 2018. DOI: <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2017.07.027>

UTAMI, E. S. W.; HARIYANTO, S. Organic compounds: contents and their role in improving seed germination and protocorm development in orchids. **International Journal of Agronomy**, London, v. 2020, p. 1-12, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/2795108>

VACIN, E. F.; WENT, F. W. Some pH changes in nutrient solutions. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 110, n. 4, p. 605-613, 1949.

VAN DEN BERG, C. *Cattleya in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2024a. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB20010>. Acesso em: 14 nov. 2024.

VAN DEN BERG, C. *Cattleya in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2024b. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB65221>. Acesso em: 14 nov. 2024.

VAN DEN BERG, C. *Cattleya in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2024c. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB582439>. Acesso em: 14 nov. 2024.

VICENTE, M. C.; ARAUJO, J. S. P. Propagação *in vitro* e aclimatização de *Cattleya walkeriana* Gardner (Orchidaceae). **Revista Agrária Acadêmica**, [s. l], v. 3, n. 2, p. 262-273, 2020. DOI: <https://doi.org/10.32406/v3n32020%2F262-273%2Fagrariacad>

WANG, Y.T. *Phalaenopsis* mineral nutrition. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 878, p. 321-333, 2010. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.878.41>

ZAHARA, M. *et al.* The effects of different media, sucrose concentrations and natural additives on plantlet growth of *Phalaenopsis* Hybrid 'Pink'. **Brazilian Archives of Biology**

and Technology, Curitiba, v. 60, p. 1-15, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2017160149>

ZANDONÁ, A. P. *et al.* Substratos alternativos ao esfagno na aclimatização de plântulas de *Arundina graminifolia* “alba” (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 7-12, 2014.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em relação ao efeito de diferentes concentrações de sais do meio MS e doses de sacarose no crescimento *in vitro* da orquídea endêmica *Cattleya nobilior* var. *amaliae* Pabst, considerando a menor demanda de insumos, constata-se que o meio MS com 25% de sais suplementados com 20 g L⁻¹ de sacarose proporciona maior comprimento da parte aérea e da maior raiz. Entretanto, recomenda-se para as variáveis número de folhas, de pseudobulbos e de raízes, o cultivo em 25% de meio MS acrescido de 10 g L⁻¹ de sacarose.

Para a espécie nativa *Cattleya cernua* (Lindl.) Van den Berg, houve influência da interação entre as concentrações dos meios e das doses de sacarose no seu crescimento *in vitro*, com exceção da variável comprimento da maior raiz, que não apresentou diferença estatística entre os tratamentos. Levando em consideração a menor demanda de insumos, recomenda-se cultivar as plântulas em meio MS com 25% de sais suplementados com 10 g L⁻¹ de sacarose, priorizando as variáveis comprimento da parte aérea, número de folhas e de pseudobulbos. Contudo, para a variável número de raízes, recomenda-se o cultivo em 25% de meio MS acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose.

No que diz respeito à utilização de meios alternativos no cultivo *in vitro*, concluiu-se que houve influência das farinhas naturais adicionadas aos meios de cultura em ambas as espécies de orquídea, de forma que visando o crescimento *in vitro* e priorizando a redução do uso de insumos, recomenda-se para a espécie *Cattleya nobilior* var. *amaliae* a utilização de farinha de coco na dose de 40 g L⁻¹ e, para a espécie *Cattleya cernua*, utilizar a adição de farinha de caju na dosagem de 10 g L⁻¹ de meio.

Ao avaliar o efeito de diferentes doses de adubação e substratos na aclimação das espécies de orquídeas estudadas no presente trabalho, verificou-se que houve influência dos substratos e das doses de adubação na etapa de aclimação. De modo que, ambas as espécies não necessitam de adubação complementar, favorecendo a porcentagem de sobrevivência e o crescimento das plantas. Contudo, a *Cattleya nobilior* var. *amaliae* apresentou melhor desempenho com o uso do substrato de esfagno, enquanto na espécie *Cattleya cernua* a aclimação foi melhor com a utilização do pó de coco como substrato.

Portanto, fica claro que cada espécie de orquídea apresenta demandas de nutrientes e de substratos específicas, sendo necessária a obtenção de protocolos de cultivo *in vitro* específicos e eficazes para cada espécie, sobretudo as nativas e endêmicas do Brasil de elevado potencial ornamental e paisagístico, contribuindo, desse modo, com a produção, multiplicação, conservação de plantas e reduzindo o risco de extinção.

Ademais, vale ressaltar que durante o levantamento bibliográfico constatou-se que há demanda por pesquisas relacionadas a essas espécies, o que evidencia a necessidade de estudos direcionados e aprofundados em multiplicação, fisiologia, conservação (*in vitro* e *ex vitro*), adaptação *ex vitro* e reintrodução dessas espécies na natureza.