

38

Circular
TécnicaFortaleza, CE
Outubro, 2012

Autores

Diva CorreiaBióloga, D.Sc. em Ciências
Florestais, pesquisadora da Embrapa
Agroindústria Tropical,
Fortaleza, CE,
diva.correia@embrapa.br**José Dionis Matos Araújo**Engenheiro-agrônomo, mestrando em
Fitotecnia, bolsista da Universidade
Federal do Ceará, Fortaleza, CE,
jose.matos@crea.org**Evaldo Heber Silva do
Nascimento**Engenheiro-agrônomo, mestrando
em Fisiologia e Bioquímica, bolsista
da Universidade Federal do Ceará,
Fortaleza, CE, e.heber.sn@gmail.com**José Maria Tupinambá
da Silva Júnior**Engenheiro-agrônomo, Pós-graduando
em Fitotecnia, Universidade Estadual
do Ceará, Fortaleza, CE,
junior_tupinamba@yahoo.com.br**Michele Campos Bessa**Engenheira-agrônoma, M.Sc. em
Engenharia Agrícola, bolsista CNPq,
Fortaleza, CE,
michele_bessa@hotmail.com

Otimização da Produção de Mudanças de *Cattleya labiata*: Efeito da Sacarose no Crescimento In Vitro e na Aclimatização

Entre as Angiospermas, a família Orchidaceae é uma das maiores em número de espécies, com aproximadamente 35.000 (SOUZA; LORENZI, 2005). Podem ser reconhecidos de 750 a 850 gêneros, dos quais cerca de 200 ocorrem no Brasil (SOUZA; LORENZI, 2005). Essas plantas são encontradas em todas as regiões do planeta, inclusive nas boreais, e apreciadas mundialmente pela beleza das suas flores quanto às cores, tamanhos e formas (REGO-OLIVEIRA et al., 2003). Entre as orquídeas, o gênero *Cattleya* tem sido o mais popular, cultivado e comercializado, evidenciando a sua importância econômica (RAPOSO, 1993; DIGNART et al., 2009); possui cerca de 70 espécies, inúmeras variedades e híbridos (COLOMBO et al., 2005). Entre as espécies, destaca-se a *Cattleya labiata*, nativa do Nordeste brasileiro e uma das mais apreciadas orquídeas do mundo (Figura 1) (RAPOSO, 1993).

Em função do extrativismo, do aumento das áreas destinadas à agricultura e à construção civil, bem como da falta da aplicação de políticas públicas relacionadas à conservação dos recursos genéticos nos diferentes biomas brasileiros, muitas espécies de orquídeas estão ameaçadas de extinção (BRASIL, 2008; FERREIRA; SUZUKI, 2008). Nesse sentido, enfatiza-se a importância do aumento do conhecimento da biologia dessas espécies com ênfase em métodos eficazes de reprodução e de propagação, visando minimizar as perdas desses materiais, manter a variabilidade genética e favorecer o repovoamento.

As técnicas de cultivo in vitro têm sido largamente utilizadas para a produção de mudas (FARIA et al., 2012) como também para estudos relacionados ao crescimento e desenvolvimento de orquídeas (SUZUKI et al., 2010; SCHNEIDER et al., 2012) e sua conservação ex situ (FERREIRA; SUZUKI, 2008).



Foto: Diva Correia

Como são plantas herbáceas que apresentam crescimento lento, consequentemente, a produção de mudas é demorada (SUZUKI et al., 2010). Adicionalmente, a formação das flores pode levar de 3 a 10 anos dependendo da espécie, o que prolonga a fase de reprodução (FERREIRA; SUZUKI, 2008; SCHNEIDER et al., 2012). A germinação de sementes de orquídeas na natureza ocorre somente na presença de fungos específicos, e estima-se que apenas aproximadamente 5% das sementes dessas plantas possam germinar em condições naturais (ARDITTI, 1979). Tais motivos

Figura 1. Plantas de *Cattleya labiata* obtidas a partir da germinação de sementes in vitro, cultivadas em viveiro localizado em Aquiraz, CE.

reforçam a importância do uso da sementeira in vitro e da aplicação de diferentes técnicas de cultura de tecidos de plantas tanto sob aspecto da multiplicação rápida quanto preservacionista devido à obtenção de mudas em larga escala e de qualidade fitossanitária (FARIA et al., 2012).

No cultivo in vitro, os meios de cultura utilizados são compostos por macro e micronutrientes, vitaminas e açúcares, suplementados quando necessário, de reguladores de crescimento, aminoácidos e agente solidificante em função da etapa do processo e/ou da espécie estudada. Segundo Suzuki et al. (2010), os meios de cultura de Knudson (1946), Vancin e Went (1949) e Murashige e Skoog (1962) são alguns dos mais utilizados no cultivo in vitro. Meios de cultura desenvolvidos para o cultivo in vitro de plantas lenhosas como Wood Plant Medium (LLOYD; McCOWN, 1980) e JADS (CORREIA et al., 1995) são citados na literatura no cultivo de *Cattleya loddigesii* (ARAÚJO et al., 2007) e *C. labiata* (CORREIA et al., 2011a; CORREIA et al., 2011b), respectivamente. Alguns estudos indicam que a redução das concentrações dos macronutrientes (REGO-OLIVEIRA et al., 2003; SORACE et al., 2008; PIVETA et al., 2010) favorece o crescimento vegetativo.

Entretanto, as condições de cultivo e o tempo de cultivo podem resultar em alterações morfológicas e fisiológicas sendo responsáveis por grande parte das perdas durante a aclimatização (DIGNART et al., 2009). É justamente na etapa da aclimatização que se viabiliza a metodologia de produção in vitro de plantas, pois é nela que se obtém o número de plantas aptas ao plantio, ou seja, maior sobrevivência de mudas com qualidade. Sendo assim, são necessários pesquisa e desenvolvimento para métodos de aclimatização de plantas.

Nesse sentido, especialmente no cultivo in vitro de orquídeas, alguns estudos ressaltam a importância da avaliação de diferentes concentrações dos carboidratos visando à melhoria do crescimento e desenvolvimento da parte aérea e radicular das culturas (MOREIRA et al., 2007; SORACE et al., 2008; PIVETTA et al., 2010; ARAÚJO et al., 2011). O carboidrato adicionado ao meio de cultivo fornece energia metabólica e estruturas carbônicas para a síntese de compostos orgânicos necessários ao crescimento das células (CALDAS et al., 1998) e também propicia a atividade heterotrófica das plantas enquanto em cultivo in vitro. A redução da concentração da sacarose àquela usual (30 g L⁻¹),

na fase de enraizamento in vitro, tem apresentado melhoria do sistema radicular e favorecido a sobrevivência das mudas obtidas durante a aclimatização (MOREIRA et al., 2007; ARAÚJO et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2011). Essa redução da fonte de açúcar nas etapas finais de cultivo in vitro também pode beneficiar a atividade autotrófica quando as mudas ainda estiverem in vitro, contribuindo para melhor aclimatização delas sob condições de casa de vegetação ou telados (ARAÚJO et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2011).

O cultivo de orquídeas in vitro tem sido uma linha de pesquisa da floricultura na Embrapa Agroindústria Tropical. Nove orquídeas tropicais estão sendo cultivadas no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, objetivando definições de protocolos de propagação in vitro e a aclimatização de mudas obtidas da germinação de sementes e da micropropagação.

Entre as espécies e híbridos em estudos, cinco pertencem ao gênero *Cattleya*. Para a espécie *Cattleya labiata*, as metodologias de crescimento de plântulas in vitro estão sendo otimizadas verificando-se o efeito da redução da sacarose e o seu resultado na aclimatização dessas mudas (ARAÚJO et al., 2011; CORREIA et al., 2011b; NASCIMENTO et al., 2011).

A seguir, são descritas as etapas de obtenção das plântulas in vitro de *C. labiata* e sua aclimatização em telado:

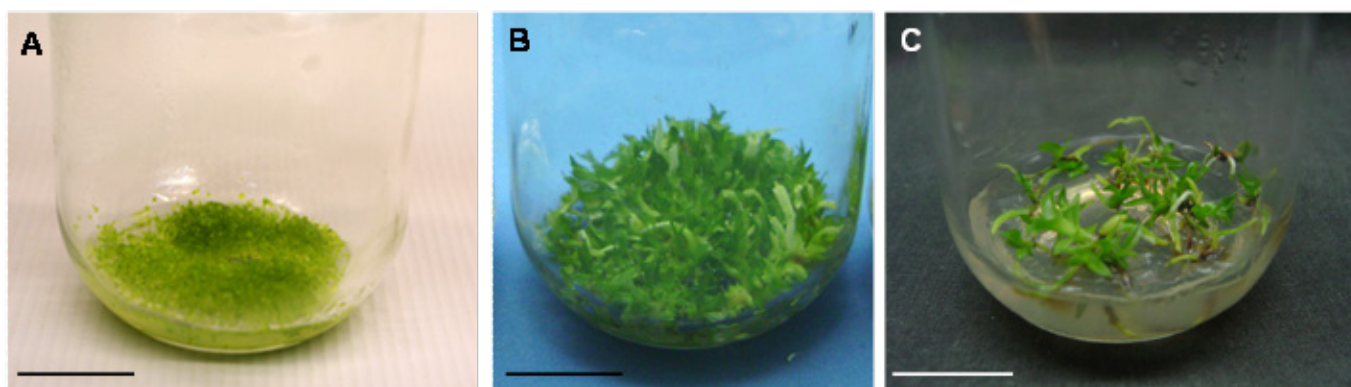
Etapas 1: Desinfestação da cápsula, inoculação das sementes, germinação de sementes e obtenção de plântulas in vitro

São utilizadas cápsulas de *C. labiata* totalmente fechadas com tempo médio requerido entre a polinização e a coleta em torno de 10 meses (FARIA et al., 2010). A cápsula é lavada com detergente comum e enxaguada em água corrente. Em câmara de fluxo laminar, a desinfestação da cápsula ocorre em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) contendo 2% de cloro ativo com acréscimo de três gotas de Tween 20 para cada 100 mL da solução desinfestante, durante 30 minutos, em agitação constante. Em seguida, a cápsula é transferida para recipiente com água destilada autoclavada, onde aquela é lavada, repetindo, sucessivamente, por duas vezes. Em seguida, transfere-se a cápsula para uma placa de Petri previamente autoclavada

e, com auxílio de um bisturi, corta-se a cápsula longitudinalmente ao meio. Com uma espátula, retira-se uma pequena quantidade de sementes e, em seguida, elas são pulverizadas em recipientes (capacidade de 250 mL) contendo 30 mL de meio de cultura JADS (CORREIA et al., 1995) com as soluções salinas reduzidas à metade. O meio é suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose e 1,7 g L⁻¹ de Gelrite® marca Sigma. O pH do meio de cultura é ajustado para 5,8 antes da sua esterilização em autoclave à temperatura de 121 °C, durante 15 minutos.

As culturas são mantidas em sala de crescimento à temperatura de 27 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas com radiação ativa fotossintética de 30 μmol m⁻² s⁻¹ fornecida por lâmpadas fluorescentes de 40 W.

Nessas condições, o início da germinação das sementes de *C. labiata* ocorre a partir de 30 dias após a sementeira. Aos 50 dias após a sementeira, observa-se uma quantidade acentuada de sementes germinadas (Figura 2-A). Aos 120 dias, pode-se observar o crescimento de muitas plântulas (Figura 2-B). Nesse momento, é realizada a primeira transferência das plântulas, de 10 a 12 por recipiente. Para isso, utilizam-se recipientes, tipo e quantidade de meio por recipiente e condições de crescimento iguais às indicados para a sementeira. A partir da primeira transferência, o meio JADS é utilizado com a formulação completa. Plântulas crescidas durante 240 dias (Figura 2-C) podem ser utilizadas para a etapa seguinte de cultivo in vitro sem e com adição de sacarose.



Fotos: Diva Correia

Figura 2. Plântulas de *Cattleya labiata*: aos 50 (A) e 120 (B) dias após a sementeira in vitro em meio de cultura JADS com as soluções salinas reduzidas à metade; após transferência e cultivo por mais 120 dias em meio de cultura JADS contendo a formulação completa, totalizando 240 dias após a sementeira (C). Barra = 1 cm.

Etapa 2: Crescimento de plântulas in vitro em meio de cultura sem e com adição de sacarose

São utilizadas plântulas cultivadas in vitro durante 240 dias após a sementeira de acordo com a metodologia indicada na etapa 1. Essas plântulas são transferidas para recipientes contendo meio de cultura JADS completo (40 mL por recipiente) sem e com adição de sacarose. Recipientes com quatro plântulas cada um são mantidos nas mesmas condições de crescimento in vitro citados na etapa 1, durante 120 dias. Aos 120 dias após a transferência, as plântulas apresentaram 100% de sobrevivência em ambos os meios de cultivo. Plântulas crescidas em meio de cultura sem adição de sacarose mostraram ganhos de crescimento significativos quando comparadas àquelas crescidas em meio de cultura contendo 30 g L⁻¹ sacarose, concentração usual em sistemas de cultivo in vitro conforme pode ser observado nas Figuras 3 e 4 e na Tabela 1.

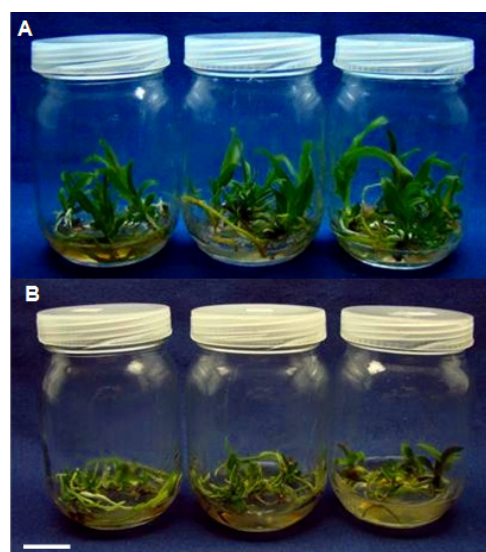


Foto: José Dionis M. Araújo

Figura 3. Plântulas de *Cattleya labiata* crescidas durante 120 dias em meio de cultura JADS, contendo a formulação completa: (A) sem a adição de sacarose e (B) com sacarose (30 g L⁻¹), totalizando 360 dias após a sementeira. Barra = 2 cm.



Figura 4. Plântulas de *Cattleya labiata* crescidas durante 120 dias em meio de cultura JADS, contendo a formulação completa: sem a adição de sacarose (A) e com sacarose (30 g L⁻¹) (B), totalizando 360 dias após a semeadura. Barra = 2 cm.

Tabela 1. Valores médios para crescimento de plântulas de *Cattleya labiata* mantidas durante 120 dias em meio de cultura JADS, com a formulação completa, sem e com adição de sacarose, totalizando 360 dias após a semeadura. Fortaleza, CE, 2010.

Variável	Sacarose	
	Ausência	30 g L ⁻¹
Altura da parte aérea (cm)	3,34	1,59*
Número de folhas	5,83	4,77*
Comprimento da maior raiz (cm)	6,65	4,78*
Número de raízes	4,53	3,75*
Massa fresca da parte aérea (g)	1,09	0,33*
Massa seca da parte aérea (g)	0,09	0,04*
Massa fresca das raízes (g)	1,33	0,69*
Massa seca das raízes (g)	0,10	0,08

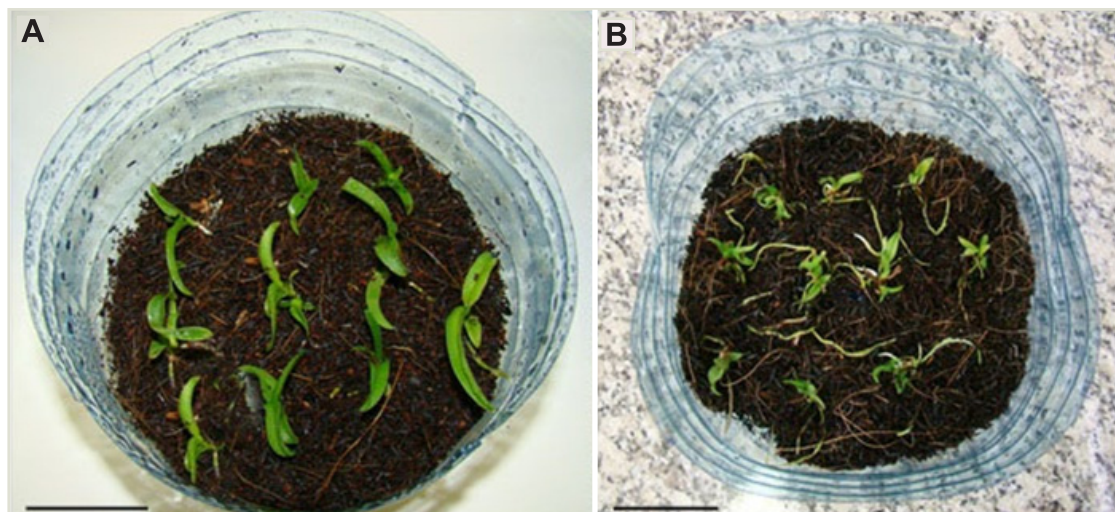
n = 250 frascos com 4 plântulas cada um.

* As médias diferem entre si ao nível de 5% de significância, pelo teste t de Student.

Etapa 3: Aclimatização de plântulas

Plântulas oriundas da etapa 2, aos 360 dias após a semeadura in vitro, crescidas em meio de cultura sem e com a adição de sacarose (Figuras 3; 4) são aclimatizadas em garrafas de polietileno tereftalato (PET) de capacidade 5 L cada uma, contendo substrato composto por casca de arroz carbonizada, pó da casca (mesocarpo) do coco-verde e fibra da

casca do coco-verde (3:3:1 v/v) (Figuras 5-A; B), de acordo com a metodologia proposta por Correia et al. (2011b). Garrafas contendo dez plântulas cada uma são mantidas em telado com 50% de redução da intensidade luminosa. As plântulas recebem pulverizações de água, uma vez ao dia, com o auxílio de pulverizador costal para manter a umidade no recipiente, e adubação foliar Peters® 20-20-20 (1 g L⁻¹), uma vez por semana.



Fotos: José Dionis M. Araújo

Figura 5. Aclimatização de plântulas de *Cattleya labiata*, com 360 dias após a sementeira in vitro, em telado utilizando garrafas PET contendo substrato composto por casca de arroz carbonizada, pó da casca do coco-verde e fibra da casca do coco-verde (3:3:1 v/v); plântulas oriundas de cultivo in vitro em meio de cultura JADS, com a formulação completa: sem a adição de sacarose (A); com sacarose (30 g L⁻¹) (B). Barras = 5 cm.

Aos 150 dias após o transplantio, as plântulas em aclimatização mostraram ganhos de crescimento significativos quando comparadas àquelas crescidas em meio de cultura contendo 30 g L⁻¹ sacarose, conforme pode ser observado na Tabela 2 e Figura 6. A metodologia também permitiu 100% e 75% de

sobrevivência das mudas oriundas de cultivo in vitro em meio de cultura sem e com adição de sacarose, respectivamente. A validação dessa metodologia foi realizada utilizando 50 garrafas PET. O resultado foi similar ao obtido na experimentação descrita acima.

Tabela 2. Valores médios para crescimento de plântulas de *Cattleya labiata*, oriundas de cultivo in vitro em meio de cultura JADS com a formulação completa, sem e com a adição de sacarose, aclimatizadas durante 150 dias, em telado e em garrafas PET contendo substrato composto por casca de arroz carbonizada, pó da casca do coco-verde e fibra da casca do coco-verde (3:3:1 v/v), totalizando 510 dias após a sementeira. Fortaleza, CE, 2010.

Variável	Sacarose	
	Ausência	30 g L ⁻¹
Altura da parte aérea (cm)	4,28	2,62*
Número de folhas	3,31	5,22
Comprimento da maior raiz (cm)	6,17	2,74*
Número de raízes	3,88	3,63
Massa fresca da parte aérea (g)	0,51	0,23*
Massa seca da parte aérea (g)	0,05	0,02*
Massa fresca das raízes (g)	0,42	0,08*
Massa seca das raízes (g)	0,03	0,01*

n = 25 garrafas PET com 10 plântulas cada uma.

* As médias diferem entre si ao nível de 5% de significância, pelo teste t de Student.

Fotos: José Dionis M. Araújo

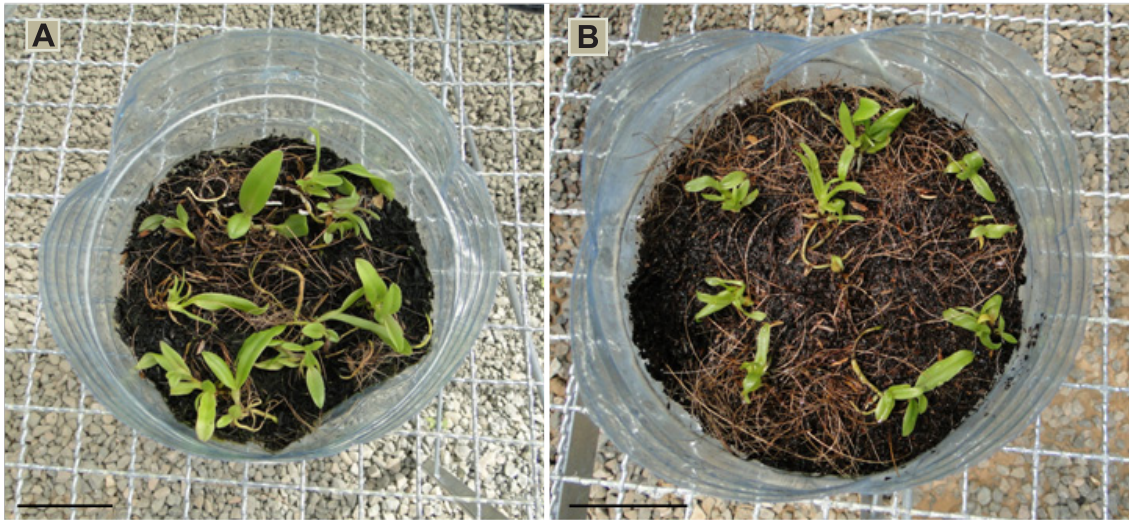


Figura 6. Aclimatização de plântulas de *Cattleya labiata*, oriundas de cultivo in vitro em meio de cultura JADS com a formulação completa, sem (A) e com (B) a adição de sacarose, aclimatizadas durante 150 dias, em telado e em garrafas PET contendo substrato composto por casca de arroz carbonizada, pó da casca do coco-verde e fibra da casca do coco-verde (3:3:1 v/v), totalizando 510 dias após a sementeira. Barras = 5 cm.

Após a aclimatização durante 150 dias em garrafa PET, as mudas de *C. labiata* oriundas do cultivo in vitro em meio de cultura sem adição de sacarose podem ser transferidas para vasos de cerâmica contendo substrato composto por casca de arroz carbonizada, pó da casca do coco-verde e fibra da casca do coco-verde (3:3:1 v/v); sobre o substrato, coloca-se uma camada fina de fibra de coco, como é observado na Figura 7. Em cada vaso, planta-se de 20

a 25 mudas, mantendo-os em telado com retenção de luminosidade em torno de 50% e umidade relativa no mínimo de 80%. A irrigação é por nebulização. Uma vez por semana, realiza-se adubação foliar Peters® 20-20-20 (1 g L⁻¹). Na Figura 7, as plantas encontram-se com 60 dias após o transplantio, ou seja, 570 dias após a sementeira. Durante o período de 60 dias de cultivo, houve 100% de sobrevivência do total de 1.000 mudas transferidas.

Fotos: Diva Correia



Figura 7. Plântulas de *Cattleya labiata*, oriundas de cultivo in vitro sem adição de sacarose, mantidas em telado de um viveiro de mudas de plantas localizado em Aquiraz, CE, aos 60 dias após transferência da aclimatização em garrafa PET, totalizando 570 dias após a sementeira.

Os resultados obtidos indicam que a ausência de sacarose no meio de cultura favorece o desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular das plântulas de *Cattleya labiata* tanto sob condições in vitro como em telado, além da maior porcentagem de sobrevivência na aclimatização.

Agradecimentos

Ao Banco do Nordeste/Fundece, MCT/Sebrae/ Finep e à Embrapa pelo financiamento da pesquisa; ao CNPq pela concessão de bolsas de fomento tecnológico.

Referências

- ARAÚJO, A. G. de; PASCOAL, M.; CASTRO, E. M. de; RODRIGUES, F. A.; SANTOS, D. N. dos; DUTRA, L. F. Efeito da concentração de sacarose e qualidade de luz na propagação in vitro de plântulas de orquídea. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v.3, n.2, p. 96-102, 2007.
- ARAÚJO, J. D. M.; NASCIMENTO, E. H. S. do; ANSELMO, G. C.; OLIVEIRA, A. E. R.; CORREIA, D. Crescimento de *Cattleya labiata* in vitro em diferentes concentrações de sacarose. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 18.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 5., 2011, Joinville. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Floricultura e Plantas Ornamentais; Lavras: Associação Brasileira de Cultura de Tecidos de Plantas, 2011. 1 CD-ROM.
- ARDITTI, J. Aspects of the physiology of orchids. **Advances in Botanical Research**, London, v. 7, p. 421-655, 1979.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa nº 6, de 23 de setembro de 2008. **Lista oficial de espécies brasileiras ameaçadas de extinção**. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/documentos/lista-de-especies-ameacadas-de-extincao>>. Acesso em: 01 nov. 2012.
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.) **Cultura de tecidos e transformações genéticas de plantas**. Brasília, DF: EMBRAPA-CNPq, 1998. p. 87-132.
- COLOMBO, L. A.; FARIA, R. T. F.; ASSIS, A. M.; FONSECA, C. B. 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, jan./mar. 2005.
- CORREIA, D.; ARAÚJO, J. D. M.; NASCIMENTO, E. H. S. do; ANSELMO, G. C.; OLIVEIRA, A. E. R. **Método de aclimatização de orquídeas em garrafas PET**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011b. (Embrapa Agroindústria Tropical. Circular Técnica, 34).
- CORREIA, D.; NASCIMENTO, E. H. S. do.; ARAÚJO, J. D. M.; ANSELMO, G. C.; RABELO, R. S. Germinação de sementes e crescimento de plântulas in vitro de orquídeas nativas do Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 62., 2011, Fortaleza. **Anais...** Brasília, DF: Sociedade Botânica do Brasil, 2011a.
- CORREIA, D.; GONÇALVES, A. N.; COUTO, H. Y. Z.; RIBEIRO, M. C. Efeito do meio de cultura líquido e sólido no crescimento e desenvolvimento de gemas de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* na multiplicação in vitro. **IPEF**, Piracicaba, n. 48/49, p. 107-116, 1995.
- DIGNART, S. L.; CASTRO, E. M. de; PASQUAL, M.; FERRONATO, A.; BRAGA, F. T. PAIVA, R. Luz natural e concentrações de sacarose no cultivo in vitro de *Cattleya walkeriana*. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 33, n. 3, p. 780-787, maio/jun. 2009.
- FARIA, R. T. de; ASSIS, A. M. de; CARVALHO, J. F. R. P. de **Cultivo de orquídeas**. Londrina: Macenas, 2010. 208 p.
- FARIA, R. T. de; ASSIS, A. M. de; UNEMOTO, L. K.; CARVALHO, J. F. R. P. de. **Produção de orquídeas em laboratório**. Londrina: Macenas, 2012. 116 p.
- FERREIRA, W. de M.; SUZUKI, R. M. O cultivo in vitro de orquídeas como alternativa para a preservação de espécies nativas ameaçadas de extinção. In: M. I. B. LOIOLA, I. G. BASEIA; J. E. LICHSTON. (Org.). **Atualidades, desafios e perspectiva da botânica no Brasil**. Natal: SBB, 2008. p. 67-68.
- LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v. 30, p. 421-427, 1980.
- KNUDSON, L. A new nutrient solution for germination of orchid seeds. **American Orchid Society Bulletin**. West Palm Beach, v.15, p.214-217, 1946.
- MOREIRA, B. M. T.; TOMBA, E. C.; ZONETTI, P. da C. Crescimento in vitro de plântulas de orquídea (*Laelia purpurata* Lindl var venosa X *Cattleya Warneri* T. Moore Alba) sob diferentes concentrações de sacarose e frutose. **SaBios: Saúde e Biologia**, Campo Mourão, v. 2, n. 2, p. 16-21, jul./dez. 2007.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for a rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p. 473-497, 1962.
- NASCIMENTO, E. H. S. do.; ARAÚJO, J. D. M.; ANSELMO, G. C.; OLIVEIRA, A. E. R.; CORREIA, D. Influência da sacarose na aclimatização de mudas de *Cattleya labiata*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 18.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 5., 2011, Joinville. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Floricultura e Plantas Ornamentais; Lavras: Associação Brasileira de Cultura de Tecidos de Plantas, 2011. 1 CD-ROM.
- PIVETTA, K. F. L.; MARTINS, T. A.; GALDIANO JÚNIOR, R. F.; GIMENES, R.; FARIA, R. T. de; TAKANE, R. J. Crescimento in vitro de plântulas de *Caularthron bicornutum* em diferentes concentrações de sacarose. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 9, p. 1897-1902, set. 2010.

RAPOSO, J. G. C. M. F. **A etimologia a serviço dos orquíófilos**. São Paulo: Ave Maria, 1993. 308 p.

REGO-OLIVEIRA, L. do V.; FARIA, R. T.; FONSECA, I. C. de B.; SACONATO, C. Influência da fonte e concentração de carboidrato no crescimento vegetativo e enraizamento *in vitro* de *Oncidium varicosum* Lindl. (Orchidaceae). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 2, p. 265-272, jul./dez. 2003.

SCHNEIDER, D.; PESCADOR, R.; BOOZ, M. R.; SUZUKI, R. M. Germinação, crescimento e desenvolvimento *in vitro* de orquídeas (*Cattleya* spp., Orchidaceae). **Revista Ceres**, Viçosa, v.59, n.2, p.185-191, 2012.

SORACE, M.; FARIA, R. T. de; DAMASCENO JÚNIOR, C. V.; GOMES, G. P.; BARBOSA, C. M.; VIEIRA, F. G. N.; SILVA, G. L.

da; TAKAHASHI, L. S. A.; SCHNITZER, J. A. Crescimento *in vitro* de *Oncidium baueri* (Orchidaceae) em diferentes concentrações de macronutrientes e sacarose. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 775-782, out./dez. 2008.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005. 604 p.

SUZUKI, R. M.; ALMEIDA, V. da; PESCADOR, R.; FERREIRA, W. de M. Germinação e crescimento *in vitro* de *Cattleya bicolor* Lindley (Orchidaceae). **Hoehnea**, São Paulo, v. 37, n.4, p.731-742, 2010.

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

Circular Técnica, 38

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Agroindústria Tropical
Endereço: Rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Pici
Fone: (0xx85) 3391-7100
Fax: (0xx85) 3391-7109 / 3391-7195
E-mail: negocios@cnpat.embrapa.br

1ª edição (2012): on-line

Comitê de Publicações

Presidente: Marlon Vagner Valentim Martins
Secretário-Executivo: Marcos Antonio Nakayama

Membros: José de Arimatéia Duarte de Freitas, Celli Rodrigues Muniz, Renato Manzini Bonfim, Rita de Cássia Costa Cid, Rubens Sonsol Gondim e Fábio Rodrigues de Miranda.

Expediente

Revisão de texto: Marcos Antonio Nakayama
Editoração eletrônica: Arilo Nobre de Oliveira
Normalização bibliográfica: Rita de Cassia C. Cid.