



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

SABRINA SILVA PEREIRA

**SUBSTRATOS ALTERNATIVOS NA ACLIMATIZAÇÃO DE *Phargmipedium*
sargentianum ROLFE (ORCHIDACEAE)**

AREIA - PB
JULHO – 2017

SABRINA SILVA PEREIRA

**SUBSTRATOS ALTERNATIVOS NA ACLIMATIZAÇÃO DE *Phargmipedium*
sargentianum ROLFE (ORCHIDACEAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentada à Universidade Federal
da Paraíba como requisito parcial
para a obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Núbia Pereira da Costa Luna

AREIA

2017

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, campus II, Areia - PB

P436s Pereira, Sabrina Silva.
Substratos alternativos na aclimatização de *Phargmipedium sargentianum* Rolfe
(Orchidaceae) / Sabrina Silva Pereira. - Areia: UFPB/CCA, 2017.
ix, 20 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Ciências Biológicas) - Centro de
Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2017.

Bibliografia.

Orientadora: Núbia Pereira da Costa Luna.

1. Orquídeas – Substratos 2. Plântulas de orchidaceae – Aclimatização 3.
Phargmipedium sargentianum – Cultivo *in vitro* I. Luna, Núbia Pereira da Costa
(Orientador) II. Título.

UFPB/CCA

CDU: 582.594

SABRINA SILVA PEREIRA

SUBSTRATOS ALTERNATIVOS NA ACLIMATIZAÇÃO DE *Phagmipedium*
sargentianum ROLFE (ORCHIDACEAE)

Aprovado em: 25/07/2017

BANCA EXAMINADORA

Núbia Pereira da Costa Luna
Profa. Dr^a. Núbia Pereira da Costa Luna
DCB/CCA-UFPB
Orientadora

Wennia Rafaelly Souza Figueiredo
Msc. Wennia Rafaelly Souza Figueiredo
Examinador – DCB/CCA/UFPB

Lucinalva Azevedo dos Santos
Msc. Lucinalva Azevedo Dos Santos
Examinador – DCB/CCA/UFPB

DEDICO

*A minha bisavó materna **Maria Ana da Conceição** e a meu primo **Vitor Rafael Silva Ferreira**, todos (in memorian), por sempre terem sido motivos de inspiração e sempre terem sonhado comigo, o dia em que conquistaria essa vitória.*

OFEREÇO

Ofereço este trabalho a minha família, em especial ao meu filho que é a minha nova luz e sempre será o motivo de todo meu amor e força na jornada da vida.

*Aos meus avós **Adauto** (in memorian) **Maria, Rita, Antônio**, pelo apoio e confiança.*

*A minha irmã **Samara** pelo apoio durante esta caminhada.*

“Sei que tudo valeu a pena. Construimos andares e andares de amizades sinceras. E só conseguimos por não termos dado sorte ao azar. No final de tudo, percebemos que o nosso processo é construtivo e hoje todos nós podemos dizer que estamos revestidos de conhecimentos.”

AGRADEÇO

A Deus pela minha existência e pela sua presença em todos os momentos da minha vida.

Aos meus pais Paulo Sergio Pereira e Sandra Silva, pela educação, incentivo e apoio e confiança prestados durante toda minha vida.

À Professora Núbia Pereira da Costa Luna pelo carinho, companheirismo, dedicação, compreensão e colaboração em todos os momentos da minha vida acadêmica essencialmente na pesquisa compartilhando seu vasto conhecimento comigo.

A meu namorado José Luiz Rufino por estar sempre ao meu lado me incentivando, me ajudando e me apoiando, dividindo os momentos bons e difíceis.

A minha colega Wennia Rafaelly Souza Figueiredo e Lucinalva Azevedo por terem me ajudado nos momentos de execução do trabalho.

Aos colegas de Graduação em Ciências Biológicas Bacharelado pela amizade e a Thais Vitoriano, Maria Luíza e Mikael Lucas que estiveram comigo durante todas as etapas da vida acadêmica.

Aos colegas de laboratório pelo desenvolvimento e ajuda das atividades, essencialmente ao colega Carlos Augusto pelo apoio nos diversos processos.

A todos os professores da graduação que de alguma forma contribuíram para a minha formação.

Ao técnico de laboratório Cosmo pela preciosa ajuda na execução dos processos laboratoriais.

A todos que, de alguma forma, colaboraram no desenvolvimento deste trabalho.

OBRIGADA!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Variação da umidade na cidade de Areia- PB onde foi implantado o experimento da orquídea <i>P. sargentianum</i> cultivada em diferentes substratos.....	13
Figura 2 - Variação da temperatura máxima e mínima na cidade de Areia- PB onde foi implantado o experimento da orquídea <i>P. sargentianum</i> cultivada em diferentes substratos.....	14
Figura 3 - Altura média da parte aérea da orquídea <i>P. sargentianum</i> aclimatizada em diferentes substratos.....	16
Figura 4 - Comprimento da maior raiz da orquídea <i>P. sargentianum</i> aclimatizada em diferentes substratos.....	17
Figura 5 - Peso fresco da orquídea <i>P. sargentianum</i> aclimatizada em diferentes substratos.	18
Figura 6 - Número de raízes da orquídea <i>P. sargentianum</i> aclimatizada em diferentes substratos.....	19
Figura 7 - Número de folhas da orquídea <i>P. sargentianum</i> aclimatizada em diferentes substratos.....	20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Substratos utilizados na aclimação de <i>P. sargentianum</i> no telado do Departamento de Biologia, Areia -2017.....	11
Tabela 2 Valores médios \pm desvio padrão para altura da parte aérea (APA), comprimento da raiz maior (CRM), peso fresco (PF), número de raízes (NR) e número de folhas (NF) de <i>Phagmipedium sargentianum</i> em função da composição do substrato.....	15

RESUMO

Phragmipedium sargentianum, é uma espécie terrestre, endêmica da Mata Atlântica a espécie consta na lista de espécies ameaçadas de extinção no Brasil. Neste trabalho foram realizados experimentos com intuito de buscar uma proposta para uso de substratos alternativos ao esfagno, no desenvolvimento de plântulas *P. sargentianum* durante a etapa de aclimatização. Para a aclimatização foram utilizadas plântulas oriundas de cultivo *in vitro*, em meio MS, acrescido de 20 gL⁻¹ de sacarose e 7 gL⁻¹ de ágar, com dois anos de idade e com aproximadamente 1,9 ± 0,7 cm de comprimento da parte aérea. Foram utilizados seis tratamentos sendo compostos por: T1 = Esfagno; T2 = Vermiculita; T3 = Bagaço de cana de cana de açúcar carbonizada; T4 = Esfagno + Vermiculita; T5 = Esfagno + Bagaço de cana de açúcar carbonizada; T6 = Vermiculita + Bagaço de cana de açúcar carbonizada, na proporção de 1:1, totalizando seis substratos com cinco repetições. As plântulas foram transplantadas em vasos de polipropileno de coloração preta. Cada repetição recebeu três plântulas. Após 47 dias avaliou-se a taxa de sobrevivência das plântulas, número de folhas e número de raízes, altura de parte aérea e comprimento do sistema radicular e peso fresco. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade. Pode-se concluir que o bagaço de cana carbonizada associado com esfagno ou vermiculita proporcionou o maior desenvolvimento vegetativo em plântulas de orquídea *P. sargentianum*, na fase de aclimatização.

Palavras chave: Orquídea; Desenvolvimento vegetativo; Plântulas.

ABSTRACT

Phragmipedium sargentianum, a terrestrial species, endemic to the Atlantic Forest, a species in the list of endangered species in Brazil. In this study experiments were carried out with a view to seeking a proposal for use of alternative substrates for Sphagnum, in the development of seedlings *P. sargentianum* during the step of acclimatization. For the acclimatization were used plants from in vitro cultivation, in MS medium supplemented with 20 gL⁻¹ sucrose and 7 gL⁻¹ agar, with two years of age and with approximately 1.9 ± 0.7 cm in length of aerial part. We used six treatments being composed by: T1 sphagnum =; T2 = vermiculite; T3 = sugar cane bagasse carbonized; T4 = sphagnum + vermiculite; T5 = sphagnum + sugar cane bagasse carbonized; T6 = Vermiculite + sugar cane bagasse carbonized, at a ratio of 1:1, totaling six substrates with five replications. The seedlings were transplanted into pots of polypropylene black color. Each repetition received three seedlings. After 47 days we evaluated the survival rate of seedlings, number of leaves and number of roots, height of the aerial part and length of the root system and fresh weight. The data were subjected to analysis of variance and the Tukey test at 5% probability. It can be concluded that the sugar cane bagasse carbonized associated with sphagnum or vermiculite provided the greatest vegetative development in seedlings of orchid *P. sargentianum*, in the acclimatization stage.

Key words: Orchid; Vegetative growth; Seedlings.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	VI
LISTA DE TABELAS.....	VII
RESUMO	VIII
ABSTRACT.....	IX
1. INTRODUÇÃO	II
2. OBJETIVOS.....	3
2.1 GERAL	3
2.2 ESPECÍFICOS	3
3. REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1. ASPECTOS GERAIS DA ESPÉCIE (<i>PHRAGMEPEDIVM SARGENTIANUM</i>).....	4
3.2. CULTIVO <i>IN VITRO</i>	5
3.3. SUBSTRATOS	6
3.4. ACLIMATIZAÇÃO	7
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
4.1. LOCAL DE CONDUÇÃO DA PESQUISA E OBTENÇÃO DAS PLÂNTULAS.....	9
4.2. PROCESSO DE ACLIMATIZAÇÃO	9
4.2.1. TRATAMENTOS	9
4.2.2. PARÂMETROS A SEREM AVALIADOS COM BASE NAS PLÂNTULAS	10
4.2.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA DO EXPERIMENTO	11
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
5.1. TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA.....	12
5.2. EFEITOS DOS SUBSTRATOS NO DESENVOLVIMENTO DE <i>P. SARGENTIANUM</i>	13
6. CONCLUSÕES	20
7. REFERÊNCIAS	21

1. INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae, com aproximadamente 35.000 espécies e vários híbridos, é considerada a maior família do reino vegetal (SUTTLEWORTH 1970). Estima-se que existam mais de 800 gêneros e 35.000 espécies de orquídeas em todo mundo com distribuição cosmopolita, embora a maioria das orquídeas ocorra nas regiões tropicais. No Brasil ocorrem cerca de 200 gêneros e 2.500 espécies (CAMPOS, 2008; MARTINS et al., 2011; SOUZA e LORENZI, 2005; SCUDELLER & RIBEIRO, 2009; UNEMOTO et al., 2007).

Orquídeas do gênero *Phragmipedium* (Subfamília Cyripedioideae), são comumente conhecidas de "orquídeas sapatinhos" aproximadamente uma dúzia dessas espécies se encontra em toda a América tropical desde México até Peru e Brasil (COX et al. 1998, DRESSLER 2003). As orquídeas "sapatinho" devido a sua grande importância horticultural, provavelmente constituem a subfamília melhor caracterizada entre as orquídeas, onde extensas coleções têm sido utilizadas como material para estudo contribuindo significativamente para o desenvolvimento de pesquisas científicas (COX et al., 1998). Essa espécie está ameaçada de extinção devido a destruição do habitat e extração maciça de plantas de seu ambiente natural (ARDITTI 1992, SALAZAR 1996), a mesma foi apontada na lista do Ministério do Meio Ambiente de 2008 (MENINI NETO et al., 2013).

As orquídeas, em geral, são plantas epífitas (raízes aéreas), utilizando o hospedeiro apenas para fins de fixação. A umidade necessária é proveniente da água da chuva, do orvalho noturno e da umidade relativa do ar (Oliveira, 1993; Demattê & Demattê, 1996).

Na natureza, a semente de orquídea germina e se desenvolve mediante uma relação simbiótica com fungos micorrízicos, os quais fornecem os nutrientes necessários ao crescimento. As orquídeas em geral apresentam uma baixa produtividade em seu ambiente natural sendo frequentemente pequenas e dispersas, ou hiperdispersas (RAVENTÓS et al., 2011). Na cultura assimbiótica, a semente é adicionada em um frasco contendo um meio de cultura estéril, o qual proporciona a germinação e o crescimento das mudas, muito eficiente na germinação e cultivo de orquídeas epífitas tropicais e subtropicais, nas fases iniciais de crescimento (STANCATO et al., 2001).

A sobrevivência e o crescimento de plântulas micropropagadas, após sua remoção do meio de cultivo *in vitro*, têm encontrado dificuldades em diferentes culturas. A transferência de ambiente protegido, estéril, com açúcares e com umidade saturada, para ambiente não estéril e com reduzida umidade, tem levado à perda de plantas, baixa taxa de crescimento e período prolongado na obtenção de plantas completamente aclimatadas (LAKSO et al.1986).

Durante a fase de aclimatização, é necessária a utilização de substratos que permitam o estabelecimento vegetativo dessas plantas. O esfagno é um dos substratos mais utilizados pelos orquidófilos e produtores brasileiros para produção de mudas (Colombo et al. 2005). O esfagno é um musgo retirado da beira dos rios, é corre o risco de ser extinto sendo sua coleta é proibida pelo Ibama (SOUZA, 2003).

A preocupação com a pesquisa de substratos alternativos ao esfagno já vem sendo tratada há algum tempo por (EVANS E STAMPS 1996), autores relatam questões como aumentos de pressões e preocupações ambientais. O uso de substratos alternativos para o cultivo de orquídeas além de auxiliar na fixação das raízes, propicia condições favoráveis para o desenvolvimento da planta, como capacidade de aeração, retenção de água e nutrientes, e isenção de patógenos, promovendo o crescimento e florescimento das plantas (ASSIS et al., 2011).

Além desses substratos a utilização de resíduos da agroindústria disponíveis regionalmente como componente para substratos pode propiciar a redução de custos, assim como auxiliar na minimização da poluição decorrente do acúmulo desses materiais no meio ambiente (FERMINO 1996). Entre os resíduos agroindustriais com alto potencial de utilização na produção de mudas, encontra-se o bagaço de cana de açúcar que consiste no resíduo obtido após a extração do caldo da cana (BARROSO et al., 1998).

Embora os resíduos orgânicos sejam, em geral, ricos em sua composição química, pouco se conhece a respeito da pronta disponibilidade dos nutrientes desses substratos para as plantas (BARROSO, 1998). A diversidade de substratos é elevada, mas seu sucesso depende da espécie e do tipo de ambiente onde se pretende cultivá-la (COOKE, 1999 & RODRIGUES 2001).

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

- Substrato alternativo ao esfagno, no desenvolvimento de plântulas *P. sargentianum* provenientes do cultivo *in vitro* durante a etapa de aclimatização.

2.2 Específicos

- Elaborar substratos alternativos para o cultivo da orquídea *P. sargentianum* utilizando subproduto da cana de açúcar.
- Comparar o desenvolvimento vegetativo *ex vitro* de *P. sargentianum* nos substratos alternativos com o desenvolvimento no Esfagno, durante a aclimatização.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Aspectos gerais da espécie (*Phragmepedium sargentianum*)

O gênero *Phragmepedium* possui origem do grego *Phragma* que significa divisão, e de *pedilon*, chinelo, em referência às divisões internas de seu fruto e ao formato do labelo de suas flores (CAVERO et al., 2000). Esse gênero encontra-se distribuído desde o México a América do Sul, e está se tornando cada vez mais popular (OAKELEY, 2009). O fato é que esse gênero tem sido relativamente pouco estudado provavelmente pelo fato de que algumas espécies produzem flores vistosas e que vem servindo de atrativo para colecionadores e viveiristas (MUÑOZ & JIMÉNEZ, 2007).

Phragmepedium sargentianum é sensível ao meio ambiente e geralmente está associada ao habitat úmido e semi-sombreado. A referida orquídea está ameaçada por mudanças de habitat, desmatamento e erosão da montanha, atividades de mineração e construção de novas estradas. (HOOKER 1895, FOWLIE 1986, KARASAWA 1980, MCCOOK 1989). A orquídea sapatinho é uma espécie terrestre, endêmica da Mata Atlântica (AMORIM et al., 2009; STEHMANN et al., 2009), classificada como espécie ameaçada de extinção no Apêndice I da Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Fauna e Flora (CITES, 2010). *Phragmepedium sargentianum* espécie endêmica do Nordeste do Brasil, com distribuição conhecida apenas para os estados de Alagoas, Bahia e Pernambuco (BARROS et al. 2014).

É uma espécie muito local e rara. A tendência é que a população esteja diminuindo e o número de indivíduos maduros também é bastante baixo, mas algumas subpopulações ainda possuem centenas de plantas. *P. Sargentianum* é uma planta ornamental que desperta o interesse de coleta de alguns colecionadores limitando para uso comercial para horticultura e para o comércio nacional e internacional. (RANKOU, H. 2016).

3.2. Cultivo *in vitro*

Nos últimos anos houve um desenvolvimento significativo do agronegócio de orquídeas como plantas ornamentais, sendo o cultivo *in vitro* uma ferramenta útil para a reprodução destas plantas, pois possibilita a obtenção de indivíduos de qualidade, bem como a produção de um grande número de mudas em curto espaço de tempo (COLOMBO et al., 2004; UNEMOTO et al., 2007). A técnica de cultivo *in vitro* é uma alternativa para a propagação em diferentes circunstâncias, tais como a multiplicação de genótipos resistentes a doenças, mais produtivos, híbridos e organismos geneticamente modificados, entre outros (REDENBAUGH, 1991).

Durante as fases do cultivo *in vitro*, as plântulas crescem sob condições especiais de redução das trocas gasosas, alta umidade do ar, baixas intensidade luminosa e uso de açúcar como fonte de energia (POSPISLOVÁ et al., 1999). A obtenção de orquídeas a partir da sementeira *in vitro* é, atualmente, um processo rotineiro. No entanto, os conhecimentos sobre a melhor formulação do meio de cultura para cada espécie ainda são limitados. Um grande número de fatores complexos influencia a germinação e o crescimento *in vitro* de orquídeas, sendo altamente dependentes da espécie (SILVA et al., 2002).

As sementes de orquídeas podem germinar *in vitro* sem nenhum tipo de relação simbiótica, pois os nutrientes denominados de macronutrientes que são compostos por Fósforo (P), Magnésio (Mg), Nitrogênio (N), Cálcio (Ca), Potássio (K) e Ferro (Fe) e os micronutrientes como o Manganês (Mn), zinco (Zn), Boro (Bo), Cobre (Cu), Cloro (Cl), Molibdênio (Mo), Cobalto (Co), e Iodo (I), além de vitaminas, açúcares, reguladores de crescimento vegetativo e suplementos orgânicos necessários para o desenvolvimento do embrião estão presentes no meio de cultura, proporcionando alto potencial de produção de plantas (DORNELES e TREVELIN, 2011).

A propagação *in vitro* tem como vantagens, a produção de um grande número de mudas em curto espaço de tempo quando comparado com métodos tradicionais, sendo estas com alta qualidade fitossanitária. A diminuição do tempo de produção destas mudas se torna de grande importância, pois algumas espécies que atingem maturidade apresentando o primeiro florescimento com 5-7 anos podem florescer com 3-4 anos de idade. (ALTAFIN 2003).

3.3. Substratos

Os substratos, como a água, temperatura, são os fatores externos que merecem atenção especial, pois atuam diretamente no processo de enraizamento. O uso desses elementos quando utilizados pode limitar o processo de formação de raízes em estacas, podendo influir na qualidade das raízes formadas e no percentual de enraizamento (KÄMPF et al., 2006; LONE et al., 2010). Há vários substratos que podem ser empregados no cultivo de orquídeas, podendo estes serem de origem vegetal, mineral e até mesmo sintético, como é o caso do isopor, utilizado como um ótimo suporte para as plantas (ASSIS et al., 2011; DRONK et al.2012; MENEGUCE et al, 2004; MORAES et al.,2002).

O esfagno é um musgo utilizado na aclimatização de orquídeas no qual cresce em regiões denominadas turfas, sendo que esta cobre somente 3% da superfície terrestre (CHARMAN, 2002). Estudos atribuem a estas regiões como sendo um reservatório de carbono terrestre, com potencial a mudanças climáticas globais, sendo vital a preservação destes ecossistemas (FROLKING et al., 2006). Estudos recentes têm se dedicado à preservação e ao manejo destes ecossistemas (FUKUTA et al., 2012; BULLOCK, 2012).

Para o cultivo da orquídea em escala comercial torna-se necessário a seleção de substratos com algumas características que favoreçam o desenvolvimento vegetativo e o florescimento, tais como: aeração; capacidade de retenção de água e nutrientes; fácil manejo; baixo custo; durabilidade; pH adequado e ser isento de fitopatógenos (KÄMPF, 2000; FERNANDES; CORÁ; BRAZ, 2006; YAMAKAMI et al., 2006; ASSIS et al., 2008, FARIA; ASSIS; CARVALHO, 2010).

Autores observaram no processo de aclimatização da orquídea *Oncidium baueri*, que o esfagno pode ser substituído por vermiculita (FARIA et al. 2001). (MORAES et al. 2002).Trabalhando com a mesma espécie de orquídea em aclimatização de plântulas, obtiveram resultados satisfatórios com o uso de vermiculita e casca de arroz carbonizada (1:1).

Devido à elevada porosidade e boa retenção de umidade, a vermiculita é cada vez mais utilizada como substrato para o enraizamento de estacas herbáceas e semi-lenhosas

(GONÇALVES & MINAMI, 1995). É insolúvel e capaz de absorver quantidades de água. Tem uma alta capacidade de troca de cátions, podendo reter nutrientes em reserva e liberá-los mais tarde (HARTMANN & KESTER, 1975).

Além dos substratos de origem mineral testados como alternativa ao esfagno, outros resíduos agrícolas podem ser aproveitados como substratos no cultivo de plantas, a fim de reduzir o acúmulo dos mesmos no ambiente, testando o bagaço de cana e torta de filtro (LELES et al. 1998) relataram que obtiveram sucesso na produção de mudas de *Hymenaeacourbaril* e *Apuleialeiocarpa*. A mistura dos substratos bagaço de cana e turfa em proporções volumétricas iguais constitui um bom substrato para a produção de mudas de tomate e maracujá-amarelo (BIASI et al., 1995).

Para a orquídea *Brassolaeliocattleya BLC. Cattleya drumbeat triumph x Brassolaeliocattleya Cattleya pastoral*, alguns autores relataram desenvolvimento satisfatório das raízes mediante a utilização de bagaço de cana-de-açúcar (Meurer et al. 2008).

O aproveitamento de resíduos da agroindústria disponíveis na região, além de auxiliar na redução do acúmulo no ambiente, representam perdas de matéria-prima e energia, exigindo investimentos significativos para controlar a poluição (LIMA et al., 2007; PELIZER; PONTIERI; MORAES, 2007).

3.4. Aclimatização

A aclimatização refere-se a fase de transferência de plântulas do cultivo *in vitro* para um novo ambiente na casa de vegetação, onde serão controlados os fatores que favorecem o desenvolvimento, como a temperatura e a umidade. (BERILLI et al. 2011). Nesta fase a planta produz o seu próprio alimento, sofrendo adaptações estruturais como a funcionalidade dos estômatos e a formação de cutículas serosas, para evitar a perda de água (JUNGHANS & SOUZA, 2013).

Esta fase é muito delicada, uma vez que, as condições de cultura “*in vitro*” modificam características bioquímicas, anatômicas e morfológicas das plantas, alterando os processos fisiológicos normais (LUCAS et al., 2002). A temperatura instável e a redução de umidade do ar em que as plântulas são expostas as levam ao

estresse e favorece o perigo de contaminações por fungos e bactérias que podem se desenvolver neste estágio (TOMBOLATO E COSTA, 1998).

A fase de aclimação é considerada crítica, por comprometer a sobrevivência e desenvolvimento de plantas micropropagadas, porém há vários estudos mostrando que as plantas aclimatadas atingiram o máximo de sobrevivência, como no caso das orquídeas *Cattleya labiata*, *Cattleya methystoglossa* e *Cattleya nobilior* Reichenbach (LEMOS 2006). Desta forma, a seleção do substrato é fundamental no crescimento e desenvolvimento das plântulas *cultivadas in vitro* influenciando diretamente no sucesso da aclimatização.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local de condução da pesquisa e obtenção das plântulas

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Biologia Celular e Cultura de Tecidos Vegetais e no Telado, ambos pertencentes ao Departamento de Ciências Biológicas - Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (DCB/CCA/UFPB). Localizado a (6°58'1,9"S e 35°43'4,2"W; altitude média de 592 m). O clima da região segundo a classificação de Köppen é do tipo As, ou seja, quente úmido (ALVARES et al., 2013). Foram utilizadas plântulas oriundas do cultivo *in vitro* em meio MS, acrescido de 20 gL⁻¹ de sacarose e 7 gL⁻¹ de ágar, com dois anos de idade. é altura media da parte aérea de 1.9 ± 0.7 cm.

4.2. Processo de aclimatização

Foi iniciado o processo de aclimatização em condições de telado. Ao serem retiradas do meio de cultivo *in vitro* as plântulas foram retiradas dos frascos e lavadas em água corrente, eliminando todo o meio de cultura aderido às raízes. Foi avaliada antes da aclimatização comprimento da parte aérea e da maior raiz, com o auxílio de um paquímetro e do número de raízes por meio da contagem e do peso de matéria fresca das plântulas, utilizando uma balança analítica. Para inferir o desenvolvimento das plântulas e após foi realizado o mesmo procedimento.

As plântulas foram transplantadas em vasos de polipropileno de coloração preta, com 10,5 cm de altura, 12,5 cm de diâmetro e quatro orifícios na base. Em cada tratamento três plântulas foram distribuídas em cinco vasos. Os substratos utilizados em todos os tratamentos foram compostos pela proporção de 1:1.

4.2.1. Tratamentos

Tabela 1 - Substratos utilizados na aclimação de *P. sargentianum* no telado do Departamento de Biologia, Areia -2017.

Substratos avaliados	Número de repetições	Proporção v/v
T1= Esfagno	5	1:1
T2= Vermiculita	5	1:1
T3 = Bagaço de cana de açúcar carbonizada	5	1:1
T4 = Esfagno + Vermiculita	5	1:1
T5= Esfagno + Bagaço de cana de açúcar carbonizada	5	1:1
T6 = Vermiculita + Bagaço de cana de açúcar carbonizada	5	1:1

A vermiculita expandida utilizada continha partículas com diâmetro entre 0,15 e 8,0 mm e densidade entre 80 a 170 kg/m³ a 25 °C. Tomando como base a metodologia adaptada da casca de arroz carbonizada de, (KAMPF et. Al. 2000). O bagaço da cana de açúcar carbonizada apresentou partículas com diâmetro entre 1,337 e 2,92 mm e densidade entre 55 a 66 kg/m³.

As plântulas se desenvolveram em condições de telado durante 47 dias, as mesmas foram regadas no turno da manhã em condições de viveiro telado. As plântulas de *P. sargentianum* receberam aplicações quinzenais do adubo N-P-K (10:10:10), na concentração de 2 g L⁻¹, sendo aplicados 10 mL dessa solução por vaso. Os vasos foram mantidos em bancadas suspensas no telado, protegido com tela de polipropileno de coloração preta, com retenção de 50% do fluxo de radiação solar.

4.2.2. Parâmetros avaliados com base nas plântulas

Avaliou-se a taxa de sobrevivência das plântulas na aclimatização, número de folhas e número de raízes, altura de parte aérea e comprimento do sistema radicular com o auxílio de uma régua milimétrica, peso fresco em balança analítica de precisão.

4.2.3. Delineamento experimental e análise estatística do experimento

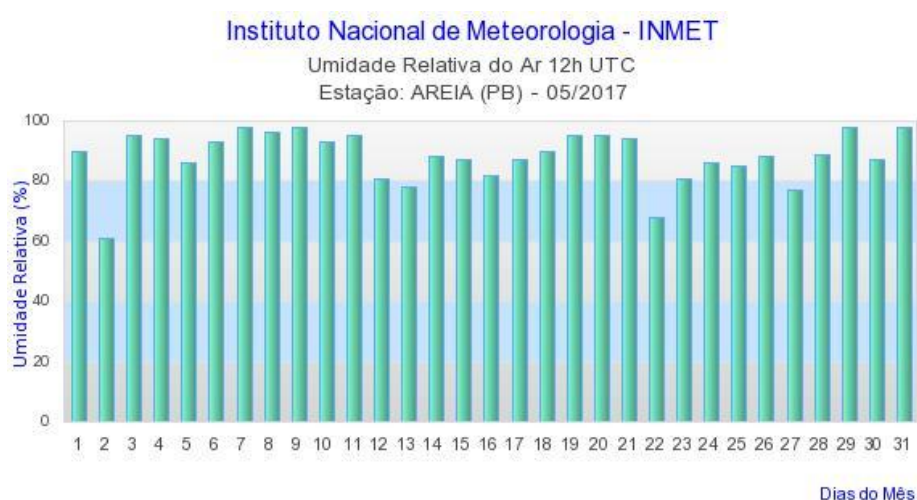
O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos e cinco repetições. Cada repetição foi representada por três plântulas, totalizando 90 plântulas de *Phragmepedium sargentianum*. Os dados foram inicialmente avaliados quanto a normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov ($p \leq 0,05$); As variáveis de distribuição contínua foram transformados em $\log(y + 1)$, enquanto os de contagem em \sqrt{y} ; Em seguida foram submetidos a análise de variância, utilizando o teste F para verificar o efeito dos substratos admitindo-se erro de até 0,05; as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA

A média da umidade ambiente na cidade de Areia-PB onde foi implantado o experimento de aclimatização de mudas *P. sargentianum* durante o período experimental foi de 80% (figura 12).

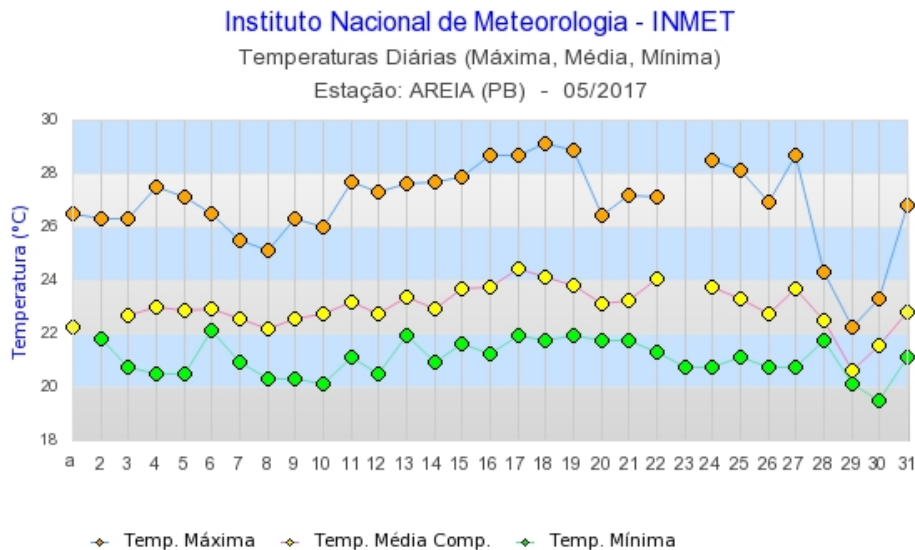
Figura 1 - Variação da umidade na cidade de Areia- PB onde foi implantado o experimento da orquídea *P. sargentianum* cultivada em diferentes substratos.



Meurer et al. (2008) avaliando o uso de diferentes formulações de bagaço de cana-de-açúcar como substrato alternativo no cultivo de mudas de orquídeas concluíram que, o gênero *Cattleya* necessita de umidade relativa de 50 a 90% e temperaturas que variam de 20-35°C. Mas para o gênero *Vanda* os autores afirmaram que, as condições ambientais ideais são de umidade variando entre 40 e 45% e temperatura de 15 a 28 °C.

A temperatura média observada durante experimento foi de aproximadamente 25°C (figura 2). Como segundo Muller et al (2007) a temperatura ideal para a aclimatação de orquídeas é de 25°C, observa-se que a temperatura média durante a pesquisa foi esse valor, portanto foi adequada para o cultivo.

Figura 2 - Variação da temperatura máxima e mínima na cidade de Areia- PB onde foi implantado o experimento da orquídea *P. sargentianum* cultivada em diferentes substratos.



5.2. Efeitos dos substratos no desenvolvimento de *P. sargentianum*

No cultivo da espécie *P. sargentianum* foi observada a sobrevivência de 96% das plantas ao final de 47 dias de cultivo, nos diferentes substratos utilizados. Observou-se que a taxa de sobrevivência das mudas não diferiu estatisticamente entre os tratamentos. Este dado aponta que as condições de manejo, tais como intensidade de luz, temperatura e irrigação foram adequadas para o cultivo. (Costa 2003) destaca que a taxa de sobrevivência de plântulas em condições *ex vitro* depende do seu estado nutricional, bem como à proporcionalidade entre o sistema radicular e a parte aérea. Resultados semelhantes foram apresentados por Colombo *et al.* (2005), com sobrevivência de 98% de plântulas de *Cattleya* chocolate drop x (*C. guttata* x *C. tenebrosa*), na aclimatização em substrato alternativos.

Apesar de (KEITHLY ET AL. 1991) relatarem que a perda na aclimatização de orquídeas obtidas *in vitro* pode exceder a 50% durante os primeiros seis meses em casa de vegetação, neste trabalho as plântulas foram analisadas apenas nos 47 dias e apresentaram porcentagem de sobrevivência considerado satisfatório em processos de aclimatização (SORGATO et al. 2015).

Na tabela 2 podemos observar que, a maior altura da parte aérea (APA) das plântulas de *P. sargentianum* ocorreu no tratamento composto pelos substratos esfagno + vermiculita (T4), com uma média de 5,02 cm de altura, já os substratos com menores medias foram compostos por esfagno (T1) com 1,82cm, vermiculita (T2) com 1,75 cm,

Bagaço de cana de açúcar carbonizada (T3) com 2,48 cm, seguidos dos valores referentes aos substratos Esfagno + Bagaço de cana de açúcar carbonizada (T5) com 3,18 cm e Vermiculita + Bagaço de cana de açúcar carbonizada (T6) com 3,26 cm. Segundo SCHMITZ et al. (2002), o esfagno proporciona durante a fase de aclimatização, suprimento hídrico adequado para desenvolvimento da parte aérea das plantas.

As plantas ex vitro apresentam maior taxa de transpiração do que quando mantidas *in vitro*, estando sujeitas a maior estresse hídrico (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998). Estes resultados estão de acordo com os de SMIDERLE & MINAMI (2001), segundo o qual não somente a água é necessária para as plantas, mas também o ar é importante. A associação dos substratos esfagno + vermiculita garantiu um bom desempenho de comprimento de parte aérea.

Tabela 2 Valores médios \pm desvio padrão para altura da parte aérea (APA), comprimento da raiz maior (CRM), peso fresco (PF), número de raízes (NR) e número de folhas (NF) de *Phagmipedium sargentianum* em função da composição do substrato.

Substrato*	APA (cm)	CRM (cm)	PF (g)	NR (n°)	NF (n°)
1	1,82 \pm 0,89 bc	1,51 \pm ab 0,06	1,56 \pm c 1,31	1,8 \pm b 0,8	3,8 \pm ab 1,5
2	1,75 \pm c 0,85	1,37 \pm ab 0,29	2,80 \pm abc 1,44	3,2 \pm ab 0,4	2,0 \pm b 1,0
3	2,48 \pm bc 0,86	1,21 \pm b 0,70	2,20 \pm bc 0,75	2,8 \pm ab 0,8	2,8 \pm ab 0,8
4	5,02 \pm a 0,95	2,65 \pm a 0,43	3,35 \pm ab 0,26	3,2 \pm ab 0,8	2,2 \pm ab 0,8
5	3,18 \pm abc 0,66	1,45 \pm ab 0,42	3,15 \pm abc 0,89	2,0 \pm b 0,7	4,4 \pm a 1,1
6	3,26 \pm ab 0,78	2,15 \pm ab 1,27	5,64 \pm a 2,32	4,0 \pm a 1,6	3,6 \pm ab 1,7

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$);

*1 – Esfagno; 2 – Vermiculita; 3 – Bagaço de cana de açúcar carbonizada; 4 – Esfagno + Vermiculita; 5 – Esfagno + Bagaço de cana de açúcar carbonizada e; 6 – Vermiculita + Bagaço de cana de açúcar carbonizada).

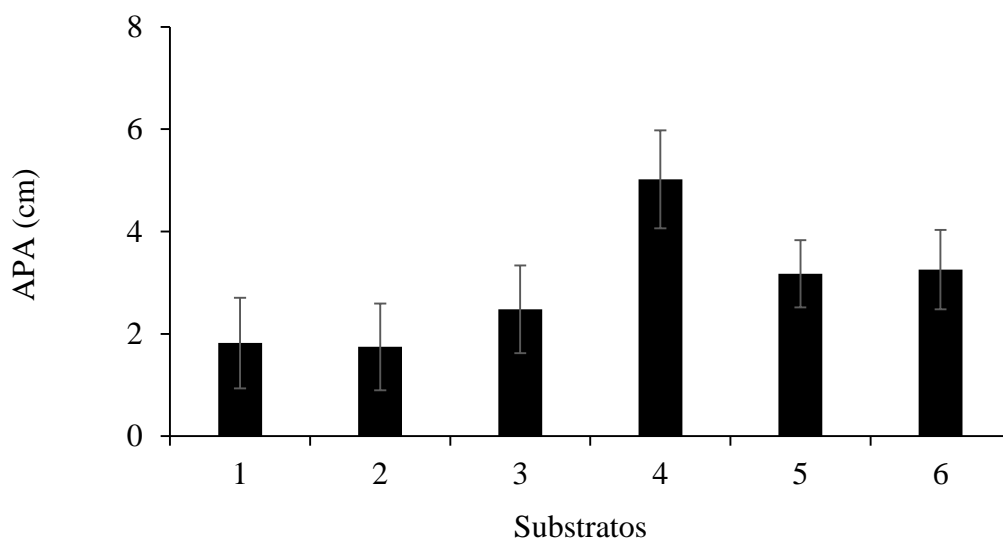


Figura 3- Altura média da parte aérea da orquídea *P. sargentianum* aclimatizada em diferentes substratos.

Comprimento da maior raiz (CMR) foi observado no substrato composto por Esfagno + Vermiculita (T4), onde as plântulas apresentaram em média 2,65 cm de comprimento da maior raiz, não diferindo no entanto, estatisticamente do substrato composto por Vermiculita + Bagaço de cana de açúcar carbonizada (T6) com 2,15 cm, esfagno (T1) com 1,51 cm e do Esfagno + Bagaço de cana de açúcar carbonizada (T5) com 1,45 cm. Os menores valores foram observados nos substratos vermiculita (T2) com 1,37 cm e o Bagaço de cana de açúcar carbonizada (T3) com 1,21 cm (tabela 2 e figura 2).

Segundo (MACEDO et al. 2014) Plantas de *B. tuberculata*, quando aclimatizadas em esfagno, fibra de coco ou carvão, tendem a investir primeiramente em estruturas capazes de absorver água e nutrientes (raízes) e em estruturas capazes de armazená-las (perfilhos), para posteriormente promover incrementos em massa, comprimento da parte aérea e do sistema radicular. Tal resultado reforça a teoria de que o substrato regula o suprimento de água e ar para as raízes, sendo a vermiculita importante por deixar o substrato mais leve, facilitando a formação do sistema radicular (SGANZERLA, 1995). Em trabalho de enraizamento com *Crisantemo* (*Chrysanthemum morifolium* cv. Polaris), (TAKEYOSHI et al 1983), verificaram que a vermiculita proporcionou níveis satisfatórios de enraizamento.

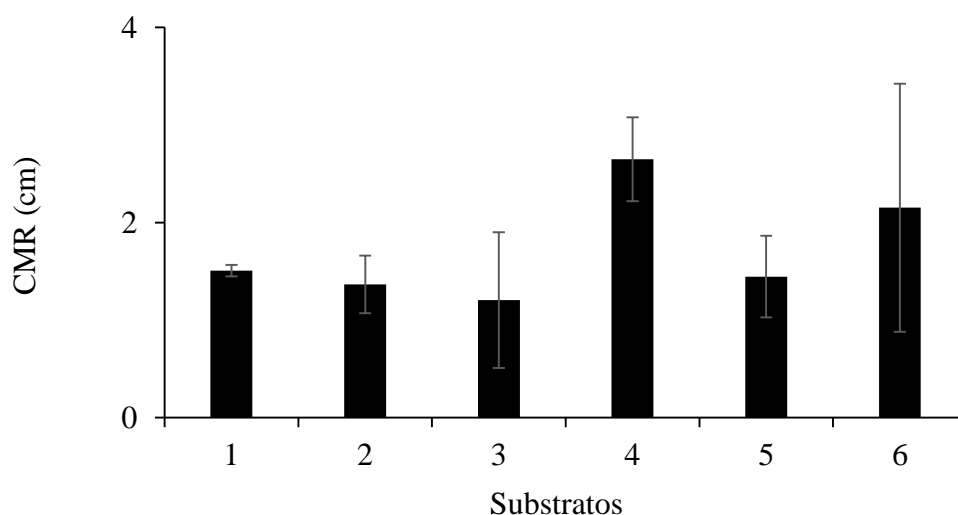


Figura 4 - Comprimento da maior raiz da orquídea *P. sargentianum* aclimatizada em diferentes substratos.

Em massa fresca houve um maior incremento nos substratos Vermiculita + Bagaço de cana de açúcar carbonizada (T6), com 5,6 g. O substrato composto por Esfagno + Vermiculita (T4) proporcionou o segundo maior peso fresco, com 3,35 g, Esfagno + Bagaço de cana de açúcar carbonizada (T5) com 3,15 g o substrato com Vermiculita (T2), com 2,80 g e Bagaço de cana de açúcar carbonizada (T3) com 2,20 g. O substrato que induziu o menor peso fresco foi o esfagno (T1), com 1,56 g (figura 15).

Trabalhos com aclimação vêm relatando um bom desenvolvimento vegetativo de orquídeas, quando se utiliza substratos alternativos e com baixo valor econômico, como o de Moraes et al. (2002) que estudou a aclimação de plântulas de *Dendrobium nobile* que estudou a aclimação de plântulas de *Dendrobium nobile* e observou, uma maior quantidade de massa fresca total foi obtida com o Plantmax e carvão vegetal + isopor moído em comparação ao xaxim.

(LONE ET AL. 2006) Testando valores de salinidade no substrato esfagno constatou que o mesmo possui valor igual a 500,00 μS valores superiores de salinidade podem ser elevados para orquídeas, podendo causar perda de água pelas raízes, ocasionando manchas ou queimas visíveis nas folhas. No presente trabalho, foram observadas queimas visíveis nas folhas, nas plantas cultivadas em esfagno. Uma possível explicação para a menor indução de peso fresco nas plântulas cultivadas no esfagno. Para GRACIANO et al. (1995) e HANDREK E BLACK (1999), a salinidade do substrato pode derivar da adubação de base ou do conteúdo natural de sais presentes

no substrato. Sendo a adubação do experimento realizada na proporção de (1:1: 1), para todos os substratos, a perda de peso fresco provavelmente foi causada pelo conteúdo natural de sais dos substratos.

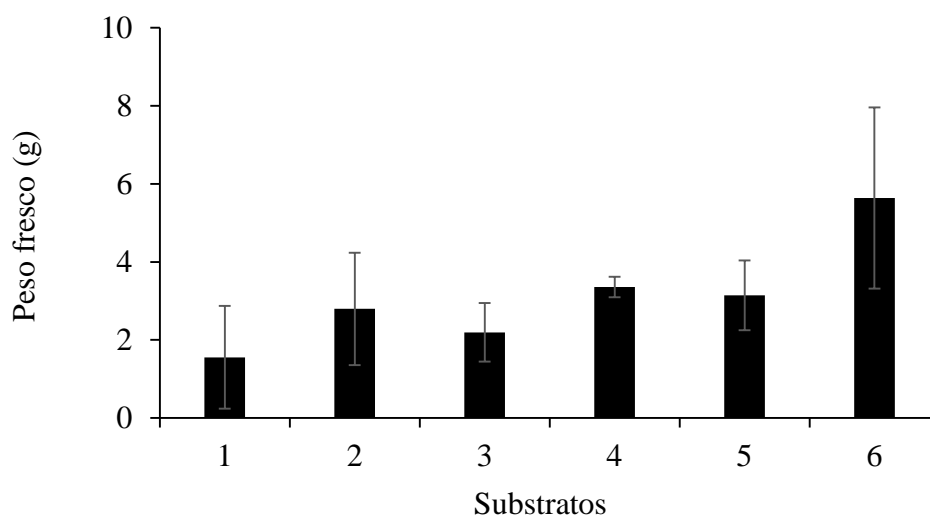


Figura 5- Peso fresco da orquídea *P. sargentianum* aclimatizada em diferentes substratos.

Quando se avalia o número de raízes das mudas de *Phagmipedium sargentianum* nota-se que, as plantas cultivadas no substrato composto por vermiculita + Bagaço de cana de açúcar carbonizada (T6) apresentaram em média, 4,0 raízes, no substrato vermiculita (T2) e no Espagno + Vermiculita (T4) apresentaram as mesmas medidas com 3,2 raízes no Bagaço de cana de açúcar carbonizada (T3) 2,8 raízes, no Espagno + Bagaço de cana de açúcar carbonizada (T5) 2,0 raízes e no substrato espagno (T1) 1,8 raízes, observando-se que não houve diferença estatística entre os tratamentos, embora o substrato com vermiculita + Bagaço de cana de açúcar carbonizada (T6) tenha apresentado o maior número de raízes. (Figura 4). O substrato de bagaço de cana de açúcar retém grande quantidade de água, conservando-se úmido por longo tempo. Em ausência de precipitações pluviais ou irrigações, pode ceder água ao velame, por contato, ou provocar elevação da umidade relativa no ambiente próximo ao vaso, mantendo o teor de umidade (DEMATTE, 1996), associado com a vermiculita que apresenta boa aeração e drenagem, elevada porosidade, com equilíbrio entre macro e microporos e alta capacidade de retenção de água (KÄMPF, 2000; HARTMANN et al., 2002). Propiciou assim um bom desenvolvimento do número de raízes. Assim,

substratos que não apresentem uma boa aeração tendem a limitar o desenvolvimento radicular (Demattê & Demattê, 1996), como pode ter ocorrido nos substratos esfagno e Esfagno + Bagaço de cana de açúcar carbonizada.

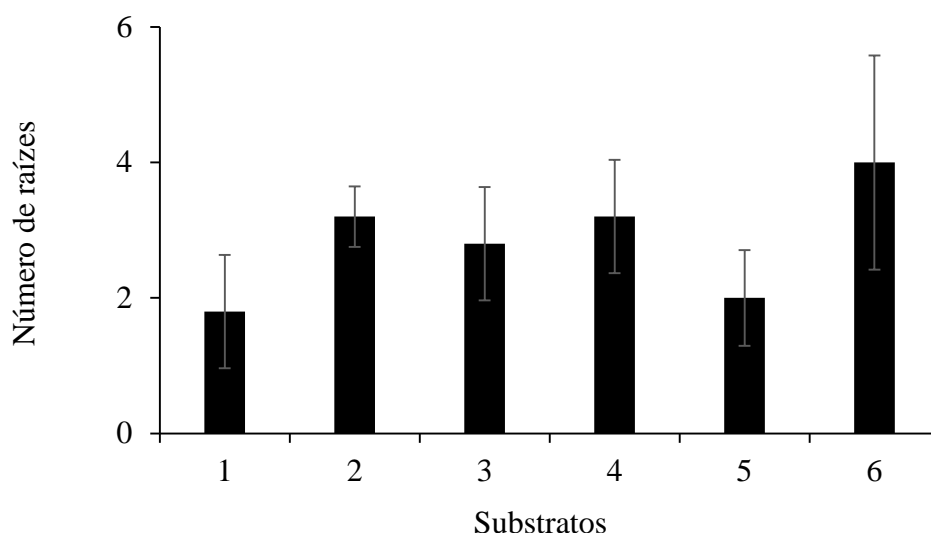


Figura 6 - Número de raízes da orquídea *P. sargentianum* aclimatizada em diferentes substratos.

Pode-se observar que, o número de folhas das plântulas da orquídea *P. sargentianum* cultivada no substrato composto Esfagno + Bagaço de cana de açúcar carbonizada (T5) foi de 4,4 folhas, Esfagno (T1) foi 3,8 folhas, Vermiculita + Bagaço de cana de açúcar carbonizada (T6) foi de 3,6 folhas, e Bagaço de cana de açúcar carbonizada (T3) foi de 2,8 folhas. Não havendo diferença estatística entre os tratamentos, embora as plântulas cultivadas no substrato com Esfagno + Vermiculita (T4) com 2,2 folhas e no substrato com Vermiculita (T2) com 2,0 folhas tenham apresentado o menor número, de folhas (Gráfico 5). Costa (2003) lembra que o número de folhas nem sempre é um critério adequado para se estimar o crescimento vegetal, podendo ser muito variável em relação à idade da planta. Por sua vez, a área foliar revela a capacidade fotossintética, demonstrando o vigor da planta e sua capacidade de sobrevivência a campo (BAKKER, 1994). Segundo Fabbri et al. (1986), durante a aclimatização, as folhas formadas *in vitro* podem persistir ou sofrer senescência. A persistência das folhas depende da espécie e das condições do ambiente durante a

aclimatização. Em trabalhos semelhantes com aclimatização e reintrodução de *Cattleya intermedia* observaram que há uma influência grande do substrato no número médio de folhas, visto que, em substrato de Pinus, ocorreu uma diminuição gradativa enquanto que, em substrato esfagno, o número médio de folhas oscilou entre as medições (DORNELES, L. T., & TREVELIN, V 2011).

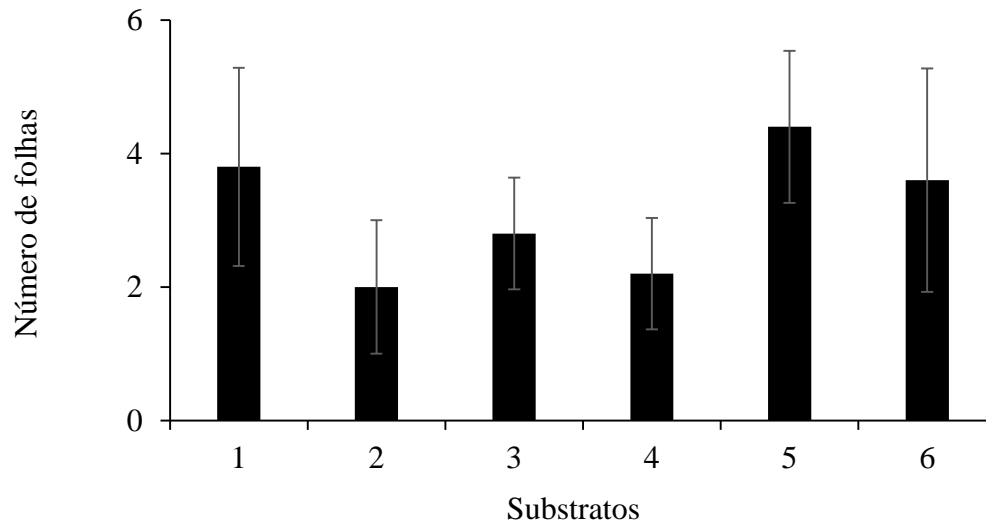


Figura 7 - Número de folhas da orquídea *P. sargentianum* aclimatizada em diferentes substratos.

6. CONCLUSÕES

O bagaço de cana de açúcar carbonizada associado com esfagno ou vermiculita proporciona o maior desenvolvimento vegetativo em plântulas de orquídea *P. sargentianum*, durante a fase de aclimatização, podendo-se constituir em uma alternativa para reduzir o uso do esfagno.

7. REFERÊNCIAS

- ALTAFIN, V. L. et al. **Semeadura *in vitro* de orquídeas para propagação massal.** Espírito Santo do Pinhal: CREUPI, 2003. 14 p.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G. **Köppen's climate classification map for Brazil.** Meteorologische Zeitschrift, Vienna, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- AMORIM, A. M.; JARDIM, J. G.; LOPES, M. M. M.; FIASCHI, P. **Angiospermas em arbuscular *Glomusma crocarpum* Tul. & Tul. Sobre o desenvolvimento de mudas de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale* L.).** 1994. 60p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1994.
- ARDITTI, J. 1992. **Fundamentals of Orchid Biology . John Wiley & Sons**(eds.), New York ,USA.
- ASSIS, A. M. et al. **Cultivo de orquídea em substratos à base de casca de café.** Bragantina, Campinas, v. 70, n. 3, p. 544-549, nov. 2011.
- BAKKER, A. P. **Efeito do húmus de minhoca e da inoculação do fungo micorrízico**
- BARROS, F et al. 2014. **Orchidaceae. In: Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.** Disponível em <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB179>>. Acesso em 05 abril 2017.
- BARROSO, D. G. et al. **Efeitos da adubação em mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) e aroeira (*Schinusterebinthifolius* Raddi) produzidas em substrato constituído por resíduos agroindustriais.** Revista Árvore, Viçosa, MG, v. 22, n. 4, p. 433-441. 1998.
- BERILLI, S. S. et al. **Crescimento de mudas de abacaxizeiro cv. vitória durante a aclimação em função do seu tamanho inicial.** Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP, v. Especial, p. 632-637, out. 2011.
- BIASI, L.A.; BILIA, D.A.C; SÃO JOSÉ, A.R.; FORNASIERI, J.L.; MINAMI, K. **Efeito de misturas de turfa e bagaço-de-cana sobre a produção de mudas de maracujá e tomate.** SciAgric., Piracicaba, mai/ago, 1995.

BREDA, L. C. S.; SILVA, R. A.; LEMOS, J. I.; **Aclimação de cattleya labiata Lindley, cattleya amethystoglossa Lindley & Reichenbach f. ex Warner e cattleya nobilior Reichenbach f. em estufa do laboratório multidisciplinar do Jardim Botânico de Brasília. In: Boletim do herbário Ezechias Paulo Heringer, 17, 2006. Brasília, p. 9.**

BULLOCK, C. H.; COLLIER, M. J.; CONVERY, F. **Peatlands, their economic value and priorities for their future management – The example of Ireland. Land Use Policy, V29, p. 921-928, 2012.**

CAMPOS, F. A. D. B. **Considerações sobre a família orquidacea: taxonomia, antropismo, valor econômico e tecnologia. O Mundo da Saúde, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 383-392. jul./set. 2008.**

CAVERO M, COLLANTES B, PATRONI C. **Orquídeas del Perú. 54 p.**

CHARMAN, D. J. **Peatlands and Environmental Change. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2002. 301p.**

CITES: **The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora.** Disponível em: www.cites.org/eng/app/e-appendices.pdf. Acesso em: 25 março. 2017.

COLOMBO, A.L, FARIA, T.R., ASSIS, A.M. & FONSECA, I.C.B. 2005. **Aclimação de um híbrido de Cattleya em substrato de origem vegetal sob dois sistemas de irrigação. Acta Scientiarum. Agronomy, 27(1):145-150, 2005.**

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, jan./mar. 2005.**

COLOMBO, L. A. et al. **Influência do fungicida clorotalonil no desenvolvimento vegetativo e no enraizamento in vitro de duas espécies de orquídeas brasileiras. Acta Scientiarum, Agronomy, Maringá, v. 26, n. 2, p. 253-258, jun. 2004.**

COOKE, R. B. **Estufas e telados. Revista Oficial da Orquidário, Rio de Janeiro, v. 13, n. 3 e 4, p. 94-101, 1999.**

- COSTA, A. M. G. **Substrato e adubação mineral na formação de portaenxerto de gravioleira (*Annona muricata* L.) em tubete**. 2003. 45 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.
- COX, A. V.; ABDELNOUR, G. J.; BENNETT, M. D. **Genome size and karyotype evolution in the slipper orchids (Cypripedioideae: Orchidaceae)**. American Journal of Botany, St. Louis, MO, v.85, n.5, p. 681–687, 1998.
- COX, A.V., A.M. PRIDGEON & M.W. CHASE. **The utility of DNA sequence data in orchid systematics: an example from the slipper orchids (Cypripedioideae)**. In: C.E.B. Pereira (ed.). **Proceedings of 15th World Orchid Conference**. Naturalia, France, 265-273. 1998.
- DEMATTÊ, J.B.I.; 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.
- DORNELES, L. T.; TREVELIN, V. **Aclimatização e reintrodução de *Cattleya intermedia* Graham ex Hook (*Orchidaceae*) obtidas por propagação *in vitro***. Revista Iheringia, Porto Alegre, v. 66, n. 2, p.167-174, dez. 2011.
- DORNELES, L. T.; TREVELIN, V. **Aclimatização e reintrodução de *Cattleya intermedia* Graham ex Hook (*Orchidaceae*) obtidas por propagação *in vitro***. Revista Iheringia, Porto Alegre, v. 66, n. 2, p.167-174, dez. 2011.
- Dressler, R.L. 2003. **Orchidaceae**, pp. 1-595. In: Hammel, B.E., Grayum, M.H., Herrera, C. & Zamora, N. (eds.). **Manual de Plantas de Costa Rica, vol III: Monocotiledóneas (Orchidaceae-Zingiberaceae)**. Missouri Botanical Garden. San Luis, Misuri.
- DRONK et al. **Desenvolvimento vegetativo de híbrido de orquídea em diferentes substratos**. Revista Ciências Agrárias, Londrina, v. 33, n. 6, p. 2109-20114, nov./dez. 2012.
- EVANS, M. R.; STAMPS, R. H. **Growth of Bedding Plants in Sphagnum Peat and Coir Dust-Based Substrates**. Journal of Environmental Horticulture, Flórida, v. 14, n. 4, p. 187-190, 1996.

FABBRI, A., Sutter, E.G & Dunston, S.K. 1986. **Anatomical changes in persistent leaves of tissue cultured straw berry plants after removal from culture.** Scientia Horticulture, 28:331-337

FARIA, R.T. et al. **Performance of different genotypes of Brazilian orchid cultivation in alternative substrates.** Braz. Arch. Biol. Technol., Curitiba, v. 44, n. 4, p. 337-342, 2001.

FERMINO, M. H. **Aproveitamento de resíduos industriais e agrícolas como alternativas de substratos hortícolas. 1996. 90 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1996.**

FOWLIE, J.A. 1986. **In Brazil XXXIII, *phragmipedium sargentianum* Atop Granite Chapadas in Pernambuco.** Orchid Digest 50 (3): 104-109.

FROLKING, S.; ROULET, N. T.; FUGLESTVEDT, J. **How northern peatlands influence the Earth's radiative budget: sustained methane emission versus sustained carbon sequestration.** Journal of Geophysical Research, s.n.t., 2006.

FUKUTA, E.; SASAKI, A.; NAKATSUBO, T. **Microclimate and production of peat moss *Sphagnum palustre* L. in the warm-temperate zone.** Plant Species Biology, v. 27, p. 110-118, 2012.

GONÇALVES, A. L.; CATHARINO, E. L. M.; TOYOFUKU, R. A. **Efeitos de diferentes substratos no enraizamento de estacas apicais e não apicais de *Rhipsalis elliptica* G. A Lindberg, Cactaceae.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 8., 1991, Joinville. Anais... Joinville: UFSC, 1991. p. 68

GRACIANO, T. et al. **Interação entre substratos e na germinação e na produção de mudas *Tagetes patula* L. (compositae).** Rev. Bras. Hort. Orn., Campinas, v. 1, n. 2,

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A.C., CALDAS, L. S., BUSO, J.A. (eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética.**

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E. **Plant propagation: principles and practices.** 3.ed., Engle Wood Cliffs: Prentice-Hall, 1975. 662p

Hooker, J.D. 1895. ***Selenipedium sargentianum*. Native of Brazil.** Curti's Botanical Magazine 121: 7446.

JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. da S. **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. 2. ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 407p.

KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guaíba, RS: Agropecuária, 2000.

KÄMPF, A. N.; COSTA, J. C. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 254 p.

KÄMPF, A.N. et al. **Floricultura: técnicas de preparo de substratos**. Brasília: LK, 2006. 132p.

KARASAWA, K. 1980. **Karyomorphological Studies in Phragmipedium, Orchidaceae**. Bulletin of the Hiroshima Botanical Garden 3: 1-49.

KEITHLY, J. H., JONES, D. P., & YOKOYAMA, H. 1991. **Survival and growth of transplanted orchid seedlings enhanced by DCPTA**. HortScience, 26 : 1284-1286.

LAKSO, A. N., B. I. REISH, J. MORTENSEN & M. H. ROBERTS.1986. **Carbon dioxide enrichment for stimulation of growth of in vitro-propagated grapevines after transfer from culture**. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 111 (4): 634-638.

LELES, P. S. S.; CARNEIRO, J. G. A.; BARROSO, D. G. **Comportamento de mudas de Hymaneacourbaril L. var.stibocarpa (Haine) e Apuleialeiocarpa (Vog) Macbr. produzidas sob três regimes de irrigação**. Revista Árvore, Viçosa, MG, v. 22, n. 1, p. 11-19, 1998.

LIMA, J.D.; MORAES, W.S.; MENDONÇA, J.C.; NOMURA, E.S. **Resíduos da agroindústria de chá preto como substrato para produção de mudas de hortaliças**. Ciência Rural, v.37, p.1609-1613, 2007.

LONE, A.B. et al. **Efeito do AIB no enraizamento de estacas herbáceas do porta-enxerto de videira VR 43-43 em diferentes substratos**. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v.31, n.3. 2006

LONE, A.B.; BARBOSA, C.M.; TAKAHASHI, L.S.A.; FARIA, R.T. **Aclimatização de Cattleya (Orchidaceae), em substratos alternativos ao xaxim e ao esfagno**. Acta Sci. Agron. Maringá, v. 30, n. 4, p. 465-469, 2010.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais do Brasil**. 3. ed. Nova Odessa: PlantarumLtda, 2005.

LUCAS, M. A. K.; SAMPAIO, N.V.; KOHN, E.T.; SOARES, P. F.; SAMPAIO, T. G. **Avaliação de diferentes composições de substratos para a aclimação de mudas de morangueiro (*Fragaria x ananassa*Duch).**Revista Cient. Rural, Santa Maria-RS, v.8, n.1, p. 16-23, 2002.v

MACEDO, M. C.; ROSA, Y. B. C. J.; SCALON, S. P.Q.; ROSA JUNIOR, E. R.; VIEIRA, M. C.; TATARA, M. B. **Substratos e intensidades luminosas no cultivo de orquídea denfal.** *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 29,n. 2, p. 168-173, 2014.

MARTINS, I. C. P. et al. **Diagnóstico do orquidário do banco de mudas de Sobral, Ceará.** Revista Homem, Espaço e Tempo, Sobral, v. 4, n. 1, p.57- 66, mar. 2011.

McCook, L.M. 1989. **Systematics of Phragmipedium (Cypripedioideae; Orchidaceae).** Cornell University.

MENEGUCE, B.; OLIVEIRA, R. B. D.; FARIA, R. T. **Propagação vegetativa de EpidendrumibaguenseLindl. (Orchidaceae) em substratos alternativos ao xaxim.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 25, n. 2, p. 101-106, abr./jun. 2004.

Menini Neto, L. et al. (Coord) Orchidaceae. In: Martinelli, G. &Moraes, M.A. (eds.). **Livro vermelho da flora do Brasil.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Pp. 749-818. 2013.

MEURER, F. M.; BARBOSA, C.; ZONETTI, P. C.; MUNHOZ, R. E. F. **Avaliação do uso de bagaço de cana-de-açúcar como substrato no cultivo de mudas de orquídeas.** *Revista de Saúde e Biologia*, Campo Mourão, v. 3, n. 2, p. 45-50, 2008.

Ministério do Meio Ambiente. 2008. **Lista oficial das espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção.** Instrução Normativa Ministério do Meio Ambiente nº 06/2008. Disponível em. Acesso em 3 abril 2017.

MORAES, L.M. et al. **Substratos para aclimatização de plântulas de DendrobiumnobileLindl. (Orchidaceae) propagadas in vitro.** Acta Sci., Maringá, v. 24, n. 5, p. 1397- 1400, 2002.

MUÑOZ, M. & JIMENEZ, V.M. **Capsule development, in vitro germination and plantlet acclimatization in Phragmipediumhumboldtii, P. longifolium and P. pearcei.**Lankesteriana 8: 23-31 2008.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A **revised medium for rapid grow and biossays with tobacco tissue cultures.** *PhysiologiaPlantarum*, Copenhagen, v.15, p. 473-497, 1962.

OAKELEY, H. **Phragmipedium.** *Orchid Society of Great Britain Journal*, London, v.58, n.3, p.158-167, 2009.

OLIVEIRA, S.AA. **Substratos no Brasil.** *Boletim da Coordenadoria das Associações Orquidófilas do Brasil (CAOB)*, Rio de Janeiro, v. 5, n. 3, p. 24-25, 1993b. P. 78-85, 1995. **Plantas.** Brasília: Embrapa - SPI: Embrapa-CNPH, v. 1, p. 183-260, 1998.

POSPÍŠILOVÁ, J., SYNKOVÁ, H., HASEL, D., ČATSKÝ, J., WILHELMOVÁ, N., ŠRÁMEK, F.: **Effect of elevated CO₂ concentration on acclimation of tobacco plantlets to ex vitro conditions.** - *J. exp. Bot.* 50: 119-126, 1999.

RAVENTÓS J, MUJICA, E., WIEGAND, T., BONET, A. **Analyzing the Spatial Structure of Broughtoniacubensis (Orchidaceae) Populations in the Dry Forests of Guanahacabibes, Cuba.** *Biotropica* 2011.

REDENBAUGH, K. **Encapsulation of somatic embryos.** In: REDENBAUGH.K.; FUJII, J.A.; SLADE, D. **Synseeds: application of synthetic seeds to crop improvement.** Boca Raton: CRC, 1991. P.203-215.

remanescentes de floresta montana no sul da Bahia, Brasil. *Biota Neotropica*, SãoPaulo, v.9, n.3, p. 313 – 348, 2009.

RODRIGUES, V. T. **Substratos e cultivo.** *Boletim da Coordenadoria das Associações Orquidófilas do Brasil (CAOB)*, Rio de Janeiro, n .44, p. 50-54, 2001.

SALAZAR, G.A. *In:* Hágsater, E & V. Dumont (eds.). **Orchids- Status Survey and Conservation Action Plan.** IUCN.Gland Switzerland and Cambridge, UK. 1996. *Conservation Threats*, pp. 6-10..

SCHMITZ, J.A.K. et al. **Propriedades químicas e físicas de substratos de origem mineral e orgânica para o cultivo de mudas em recipientes.** *Cienc. Rural*, Santa Maria, v. 32, n. 6, p. 937-944, 2002.

SGANZERLA, E. **Nova agricultura: a fascinante arte de cultivar com os plásticos.** 5.ed. Porto Alegre: Guaíba Agropecuária, 1995. 342 p.

SILVA ALL DA, FRANCO ETH, GESING JP A. & PESSOA CC (2002) **Efeitos de alguns meios de cultura sobre o desenvolvimento in vitro de *Cattleya tigrina* A. Rich. ExBeer - Orchidaceae.** ABCTP Notícias 4-7.

SMIDERLE OJ; SALIBE AB; HAYASHI AH; MINAMI K. 2001. **Produção de mudas de alface, pepino e pimentão em substratos combinando areia, solo e Plantmax®.** Horticultura Brasileira 19: 253-257.

SORGATO, J. C., ROSA, Y. B. C. J., SOARES, J. S., LEMES, C. S. R. & SOUSA, G. G. D. 2015. **Light in intermediate acclimatization of in vitro germinated seedlings of *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree.** Ciência Rural, 45: 231-237. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20131619>

TAIZ, L. & ZEIGER, E. 2009. Fisiologia Vegetal. 4ed. Porto Alegre: Artmed. 819 p.

SOSA-ARNAO, J. H. **Caldeiras aquatubulares de bagaço: estudo do sistema de recuperação de energia.** 2007. 224 f. Tese (Doutorado) - Engenharia Mecânica, Unicamp, 2007.

SOUZA, M. **Muito além do xaxim.** Natureza, São Paulo, n.2, p.32-37, 2003.

STANCATO, G. C. et al. **Produção de mudas de orquídeas a partir de sementes in vitro e sua viabilidade econômica: estudo de caso.** Rev. Bras. Hort. Ornam., Campinas, v. 7, n. 1, p. 25-33, 2001.

SUTTLEWORTH, F. S. et al. **Orchids.** São Francisco: Western Publishing Company, 1970.

TAKEYOSHI, N.I.; ANRAKU, R.N.; MINAMI, K.; LIMA, A.M.L.P. **Efeitos de diversos substratos no enraizamento de estacas de *Chrysanthemum morifolium* cv. Polaris.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 4., 1983, Rio de Janeiro, Anais... Brasília: EMBRAPA, Departamento de Difusão de Tecnologia, 1984. p. 137-142.

TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. **Micropropagação de plantas ornamentais.** Boletim Técnico do Instituto Agrônomo, Campinas, n. 174, p. 58-62, maio 1998.

