

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS**

**ACLI MATI ZAÇ Ã O DE *Dendrobium phalaenopsis* Deang  
Suree**

**JOSÉ CARLOS SORGATO**

**DOURADOS  
MATO GROSSO DO SUL  
2013**

# **ACLIMATIZAÇÃO DE *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree**

**JOSÉ CARLOS SORGATO**  
Engenheiro Agrônomo

Orientadora: PROFA. DRA. YARA BRITO CHAIM JARDIM ROSA

Dissertação apresentada a Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre

Dourados  
Mato Grosso do Sul  
2013

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Biblioteca Central da UFGD, Dourados, MS, Brasil**

S713a	<p>Sorgato, José Carlos</p> <p>Aclimatização de <i>Dendrobium phalaenopsis</i> Deang Suree / José Carlos Sorgato. – Dourados, MS : UFGD, 2013.</p> <p>35 f.</p> <p>Orientadora: Profa. Dra. Yara Brito Chaim Jardim Rosa.</p> <p>Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Orquídea – Dourados. 2. Floricultura. I. Título.</p> <p align="right">CDD: 584.40981</p>
-------	--

# ACLIMATIZAÇÃO DE *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree

por

José Carlos Sorgato

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de  
MESTRE EM AGRONOMIA

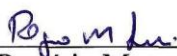
Aprovada em: 26 /02/2013



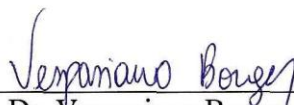
Dr.<sup>a</sup>. Silvana de Paula Quintão Scalon  
Co-Orientador – UFGD/FCA



Dr. Edgard Jardim Rosa Junior  
Co-Orientador – UFGD/FCA



Dr. Rogério Mamoru Suzuki  
Instituto de Botânica – SP



Dr. Vespasiano Borges de Paiva Neto  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Dr.<sup>a</sup>. Yara Brito Chaim Jardim Rosa  
Orientadora – UFGD/FCA

<sup>11</sup>Deus disse: “Produza a terra plantas, ervas que contenham semente e árvores frutíferas que deem fruto segundo a sua espécie e o fruto contenha a sua semente”. E assim foi feito... <sup>12</sup>E Deus viu que isto era bom.

*Livro do Gênesis, Capítulo 1, Versículo 11 e 12.*

A Deus

Aos meus pais,

José Sorgato e Margarida M. Roth Sorgato

Aos meus irmãos,

Marcos C. Sorgato, Silvio C. Sorgato e Fernanda L. Sorgato

Dedico

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, coragem de enfrentar as dificuldades e oportunidade de alcançar minhas conquistas.

A minha orientadora Dra. Yara Brito Chaim Jardim Rosa pelos ensinamentos, exemplo, ajuda, paciência, amizade, confiança e credibilidade em mim depositada.

Aos (as) professores (as) Dra. Silvana de Paula Quintão Scalon, Dr. Edgard Jardim Rosa Junior, co-orientadores dessa dissertação, por sua ajuda, interesse e sábias ideias. As técnicas de laboratório Nilda Tiyoko Kobayashi Hoffmann, Jackeline Schultz Soares e Elda Barrios de Azambuja Silva por sua ajuda, interesse, excelente exemplo e amizade.

A Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados pela disponibilidade da estrutura necessária para execução do projeto.

A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudos durante o período da realização desse trabalho e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal da Grande Dourados, pela oportunidade de realização do curso.

A minha família pela compreensão, ajuda e apoio em mim depositado em todos os momentos.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	viii
INTRODUÇÃO GERAL .....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	5
CAPÍTULO I - ACLIMATIZAÇÃO INTERMEDIÁRIA NA PRODUÇÃO DE <i>Dendrobium phalaenopsis</i> Deang Suree.....	8
RESUMO .....	8
1. INTRODUÇÃO .....	10
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	12
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	14
4. CONCLUSÃO .....	18
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	19
CAPÍTULO II - LUMINOSIDADE E IMERSÃO EM ÁGUA NA ACLIMATIZAÇÃO INTERMEDIÁRIA DE <i>Dendrobium phalaenopsis</i> Deang Suree.....	22
RESUMO .....	22
1. INTRODUÇÃO .....	24
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	26
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	28
4. CONCLUSÃO .....	32
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	33



## ACLIMATIZAÇÃO DE *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree

José Carlos Sorgato, Yara Brito Chaim Jardim Rosa, Jackeline Schultz Soares, Silvana de Paula Quintão Scalon, Edgard Jardim Rosa Junior.

### RESUMO

O trabalho foi realizado no Laboratório de cultivo *in vitro* e na área de Jardinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) para avaliar condições de luminosidade e seu efeito conjunto do período de imersão em água destilada em plantas de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree. Foram utilizadas, como material de estudo, plantas com 180 dias, oriundas de semeadura *in vitro*, padronizadas quanto ao tamanho e caracterizadas quanto à massa fresca, número de folhas, comprimento de pseudobulbo, diâmetro do maior pseudobulbo, número de pseudobulbos e comprimento da maior raiz. Foram conduzidos dois experimentos. No primeiro experimento um conjunto de 40 plantas foi acondicionado diretamente em viveiro coberto pela sobreposição de duas telas de sombreamento de 50% ( $162,0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e três conjuntos de 40 plantas cada, foram transferidos para sala de crescimento com fotoperíodo e temperatura controlados (12 h;  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ), sendo submetidos à aclimatização intermediária, por 30 dias, sob às seguintes condições de luminosidade propiciadas por diferentes lâmpadas: 1- luz fluorescente branca ( $18,9 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); 2- luz fluorescente branca + luz fluorescente vermelha ( $14,85 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e 3- luz fluorescente vermelha ( $9,45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Posteriormente ao período de aclimatização intermediária, as plantas foram caracterizadas anatomicamente e transferidas para o viveiro que continha o controle. No segundo experimento, um conjunto, considerado controle, não foi submetido à imersão e os demais foram imersos em água destilada por 12; 24; 36; 48; 60; 72 ou 84 horas. Após cada período de imersão as plantas de cada conjunto foram transferidas para recipientes de polipropileno contendo, como substrato, a mistura de esfagno e fibra de coco (1:1 v v<sup>-1</sup>). As plantas foram transferidas para sala de crescimento com fotoperíodo e temperatura controlados (12 h;  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ), por 30 dias, para a aclimatização intermediária sendo submetidas a duas condições de luminosidades ( $14,85$  ou  $18,9 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Após o período de aclimatização intermediária, as plantas foram transferidas para o viveiro, sendo posteriormente avaliadas quanto às mesmas características do primeiro experimento, sendo calculadas as porcentagens de seus incrementos em relação aos valores iniciais. Para o experimento 1, apenas as plantas submetidas à aclimatização intermediária, com luz vermelha, foram estatisticamente superiores ao controle em relação à porcentagem de sobrevivência e incremento em massa fresca. Para o experimento 2, à medida que o tempo de imersão aumentou houve decréscimo nos incrementos de massa fresca e número de pseudobulbos bem como no número de raízes das plantas cultivadas sob luz branca + luz vermelha. A ausência de imersão independentemente da condição de luminosidade é benéfica para *D. phalaenopsis* Deang Suree.

**Palavras-chave:** Orchidaceae, Floricultura, Condições de luminosidade, Imersão

## ABSTRACT

The experiment was conducted at the Laboratory of *in vitro* and in Jardinocultura area of the Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) - Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) to assess luminosity conditions and their joint effect of immersion time in distilled water on plants of *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree. Were used as study material, plants with 180 days originating from *in vitro* sowing, standardized in size and characterized to fresh weight, number of leaves, pseudobulb length, diameter of the largest pseudobulb, number of pseudobulbs and length of root. Two experiments were conducted. In the first experiment a set of 40 plants was placed directly in the greenhouse covered by two 50 % shade screens ( $162,0 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) and three sets of 40 plants each were transferred to growth room with controlled temperature and photoperiod (12 h,  $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ) and submitted to intermediate acclimatization for 30 days under the following luminosity conditions: 1 - white fluorescent light ( $18,9 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) 2 - white fluorescent light + red fluorescent light ( $14,85 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) and 3 - red fluorescent light ( $9,45 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). After to intermediate acclimatization period, the plants were characterized anatomically and transferred to the greenhouse containing control. In the second experiment, a set, regarded as control, was not submitted to immersion and the other plants were immersed in distilled water for 12; 24; 36; 48; 60; 72 or 84 hours. After each immersion period the plants were transferred to polypropylene container containing as substrate a mixture of sphagnum and coconut fiber (1:1 v v<sup>-1</sup>). The plants were allocated in growth room with controlled temperature and photoperiod (12 h,  $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ) during 30 days for intermediate acclimatization being submitted to two luminosity conditions ( $14,85$  or  $18,9 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). After a period of acclimatization intermediate, the plants were transferred to greenhouse. Being subsequently evaluated for the same characteristics of the first experiment, are calculated the percentages of increments of their initial values. For experiment 1, only plants submitted to intermediate acclimatization, with red light, were statistically better to the control in relation to the survival percentage and increase in fresh weight. For experiment 2, with the increase of immersion time was decreased in increments of fresh weight and number of pseudobulbs as well as the number of roots of plants grown under white light + red light. The immersion default in distilled water independently of the luminosity condition is beneficial to plants of *D. phalaenopsis* Deang Suree.

**Keywords:** Orchidaceae, Floriculture, Luminosity conditions, Immersion

## INTRODUÇÃO GERAL

A família Orchidaceae originou-se na Malásia, há milhões de anos atrás, durante o período cretáceo, quando a maioria das famílias das angiospermas tornavam-se diferenciadas (GARAY, 1972). Possui cerca de 850 gêneros e cerca de 25.000 espécies distribuídas em quase todos os continentes, apresentando maior concentração e diversidade nas regiões tropicais e subtropicais, podendo ser encontradas desde as proximidades do polo Ártico até o polo Antártico, sendo, considerada a maior família dentre as monocotiledôneas (STOUTAMIRE, 1964; DRESSELER, 2005; KERBAUY, 2011). No Brasil, Barros et al. (2013), listam 2.440 espécies, das quais 1.630 são endêmicas do país.

Devido ao elevado valor ornamental, as orquídeas vem sendo cultivadas pelo homem há séculos. As exportações brasileiras de mudas de orquídeas em 2009 foram de US\$ 219,86 mil. Os principais países de destino foram Japão (53,08%), Alemanha (21,74%), EUA (12,27%) e Holanda (8,08%), além de Ucrânia, Taiwan, Hong Kong, África do Sul e Chile (JUNQUEIRA e PEETZ, 2010). No Brasil, dentre as orquídeas mais comercializadas e promissoras para exportação de flores de corte podem ser citadas as dos gêneros, *Cattleya*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Phalaenopsis* e *Oncidium* (MATTIUZ et al., 2006; FARIA, 2012).

Além do aspecto ornamental e valor comercial na floricultura, as plantas dessa família botânica possuem importante papel como componente florístico de diversos ecossistemas. Determinadas espécies são usadas como aromatizantes de alimentos, como a baunilha (*Vanilla planifolia* Andrews) e espécies do gênero *Dendrobium*, em algumas partes do mundo, são utilizadas como medicinais e suas flores são utilizadas em cerimônias religiosas, servindo como oferenda e elemento decorativo, enquanto outras espécies são utilizadas na produção de cosméticos e na composição de perfumes (HOEHNE, 1949; FARIA, 2010).

O gênero *Dendrobium* é constituído por aproximadamente 1.500 espécies, quase todas epífitas, apresentando grande variabilidade genética e considerado um dos maiores da família. Por sua grande quantidade de espécies e de híbridos adaptáveis a todos os tipos de clima, larga distribuição geográfica, crescimento em diferentes habitats e valor florístico, é um dos gêneros mais produzido e comercializado, tanto no Brasil como no exterior (JONES et al., 1998; LORENZI e SOUZA, 2008; FARIA, 2010).

O pseudobulbo das espécies deste gênero é bastante variável, podendo ser cilíndrico, linear, alongado, entumescido e arredondado. As inflorescências podem ser uniflorais ou multiflorais, formadas nas laterais ou no ápice dos pseudobulbos, com flores variando em tamanho e cor. As flores possuem as sépalas unidas junto à base da coluna, formando um pequeno saco e são mais finas que as pétalas laterais. O labelo envolve a coluna, delimitando uma cavidade bem visível (LORENZI e SOUZA, 2008; FARIA, 2010).

No Mato Grosso do Sul, *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree produz hastes com 8 a 16 botões florais, dependendo da idade da planta, e suas flores, quando abertas, apresentam diâmetro em torno de 5 cm, florescendo entre março e julho durante aproximadamente 30 dias.

As técnicas de cultivo *in vitro* são utilizadas como instrumento para multiplicação de várias espécies vegetais, incluindo as Orchidaceae, sendo uma ferramenta biotecnológica importante na obtenção de plantas tanto para a pesquisa visando a preservação das espécies, quanto para a produção em escala comercial.

Apesar do sucesso das técnicas de propagação *in vitro*, Hazarika (2003) ressalta que um número expressivo de espécies vegetais micropropagadas não sobrevive quando transferidas das condições *in vitro* para o ambiente *ex vitro*. No cultivo *in vitro* as plantas vivem em ambiente asséptico e condições heterotróficas, levando a alterações morfofisiológicas na planta, tais como feixes vasculares rudimentares, má formação da cutícula além de estômatos pouco ou não funcionais (CAPELLADES et al., 1990; ROMANO e MARTINS-LOUÇÃO, 2003; TAVEIRA, 2011; FARIA 2012).

Essas alterações resultam das condições formadas *in vitro*, como alta umidade dos frascos de cultivo, reduzida irradiância, presença de carboidratos exógenos, baixa disponibilidade de CO<sub>2</sub> e reduzidas ou nenhuma troca gasosa com o ambiente externo (KODYM e ZAPATA-ARIAS, 1999; ARIGITA et al., 2002). Desta forma, a utilização de tratamentos que antecedam a aclimatização muitas vezes é necessária.

A aclimatização de uma planta é definida como, a adaptação climática de um indivíduo, que é transferido para um novo ambiente, sendo esse processo conduzido de forma artificial e realizado após o plantio das mudas propagadas *in vitro*. Esta fase é bastante crítica e delicada, sendo um período de estresse para o vegetal o que pode limitar o processo de micropropagação. (TOMBOLATO e COSTA, 1998; FARIA, 2012).

Para tentar minimizar os efeitos da aclimatização, uma fase intermediária compreendida entre o cultivo asséptico e a transferência para o ambiente externo é realizada com a finalidade de elevar a taxa de sobrevivência das plantas produzidas *in vitro*. BRAINERD e FUCHIGAMI (1981), VILLA et al. (2006), SOUZA SOBRINHO et al. (2007), NASCIMENTO et al. (2008), SCHUCK et al. (2012), elevaram a taxa de sobrevivência de plantas cultivadas destampando os frascos de cultivo hermético, ainda em sala crescimento, por 2 a 5 dias antes do transplante *ex vitro*, submetendo as plantas à umidade relativa mais baixa, resultando na adaptação mais rápida dessas plantas, do que das transplantadas diretamente para a casa de vegetação.

Já GRATTAPAGLIA e MACHADO (1990), OTONI et al. (1995), COSTA et al. (2007), MOURA et al. (2012), propiciaram adaptação progressiva de plantas recém retiradas dos recipientes de cultivo *in vitro*, transferindo-as para substrato de cultivo *ex vitro* cobrindo-as com polipropileno transparente provido de orifícios para ventilação, criando um ambiente com umidade relativa mais alta que o do viveiro.

A luminosidade proporcionada às plantas é outro fator que influencia a aclimatização da maioria das orquídeas epífitas que por serem componente de florestas tropicais úmidas (RICKLEFS, 2010) são expostas à baixa intensidade luminosa que podem gerar respostas metabólicas, modificando a morfogênese de tecidos e órgãos das plantas em todas as etapas do desenvolvimento (DÍAZ-PÉREZ et al., 1995; MAJEROWICZ e PERES, 2008; TAVEIRA, 2011).

A percepção do sinal luminoso pelas plantas requer que a luz seja absorvida e se torne metabolicamente ativa, o que é efetuado pelos fotorreceptores ou pigmentos especializados, responsáveis pelas respostas fotomorfogênicas das plantas. Entre os pigmentos que podem promover essas respostas nas plantas, os mais importantes são os fitocromos que absorvem principalmente o vermelho e o vermelho extremo (picos máximos de absorção entre 650 - 680 e 710 - 740 nm, respectivamente), e os criptocromos que absorvem o azul e o ultravioleta (picos máximos de absorção entre 425 - 490 e 320 - 400 nm, respectivamente) (MAJEROWICZ e PERES, 2008).

As salas de crescimento para cultivo *in vitro* quase sempre utilizam lâmpadas fluorescentes brancas (400 - 600 nm) que são desprovidas de ondas na faixa do vermelho (KÄMPF, 2005). Devido à importância da luz vermelha na fotomorfogênese, alguns autores têm analisado este comprimento de onda como forma de propiciar maior crescimento e desenvolvimento de plantas cultivadas *in vitro*. ARAÚJO et al. (2009) relataram que plantas de *Cattleya loddigesii* cultivadas *in vitro*

sob luz vermelha, apresentaram maior alongamento de parte aérea. CYBULARZ-URBAN et al. (2007) observaram o aumento do comprimento de broto para híbrido de *Cattleya*. TANAKA et al. (1998) utilizaram LED (light-emitting diodes) azul e vermelha propiciando aumento no crescimento de plantas de *Cymbidium*. Em contrapartida, a utilização de luz vermelha, reduziu o comprimento da maior raiz e aumentou o índice de mortalidade de *Cattleya loddigesii* durante a aclimatização (GALDIANO JUNIOR et al., 2012).

Diante do exposto objetivou-se estudar a aclimatização de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree visando o aumento da porcentagem de sobrevivência e seu crescimento inicial.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

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

ARIGITA, L.; GONZÁLEZ, A.; TAMÉS, R. S. Influence of CO<sub>2</sub> and sucrose on photosynthesis and transpiration of *Actinia deliciosa* explants cultured *in vitro*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.115, n.1, p.166-173, 2002.

BARROS, F.; VINHOS, F.; RODRIGUES, V. T.; BARBERENA, F. F. V. A.; FRAGA, C. N., PESSOA, E. M.; FORSTER, W. *Orchidaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil*. 2013. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB179>>. Acessado em: 29 abr. 2013.

BRAINERD, K. E. e FUCHIGAMI, L. H. Acclimatization of aseptically cultured apple plants to low relative humidity. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.106, p.515-518, 1981.

CAPELLADES, M.; FONTARNAU, R.; CARULLA, C.; DEBERGH, P. Environment influences anatomy of stomata and epidermal cells in tissue-cultured *Rosamultiflora*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.115, p.141-145, 1990.

COSTA, N. P.; DAMIÃO FILHO, C. F.; COSTA, N. P.; BATISTA, J. L. Semeadura *in vitro* e aclimatização de plântulas de caramboleira. **Revista Ciências Agrárias**, Pernambuco, n.47, p. 211-220, 2007.

CYBULARZ-URBAN, T.; HANUS-FAJERSKA, E.; SWIDERSKI, A. Effect of light wavelength on *in vitro* organogenesis of a *Cattleya* hybrid. **Acta Biologica Cracoviensia**, Cracow, v.49, n.1, p.113-118, 2007.

DIÁZ-PÉREZ, J.; SHACKEL, K. A.; SUTTER, G. G. Acclimatization and subsequent gas exchange, water relations, survival and growth of microculture apple plantlets after transplanting them in soil. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.9, p.225-232, 1995.

DRESSLER, R. L. How many orchid species? **Selbyana**, Sarasota v.26, p.155-158, 2005.

FARIA, R. T.; ASSIS, A. M.; CARVALHO, J. F. R. P. **Cultivo de orquídeas**. Londrina: Mecenias, 2010. 208p.

FARIA, R. T. **Produção de orquídeas em laboratório**. Londrina: Mecenias, 2012. 124p.

GALDIANO JUNIOR, R. F.; MANTOVANI, C.; PIVETTA, K. F. L.; LEMOS, E. G. M. Crescimento *in vitro* e aclimatização de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae)

com carvão ativado sob dois espectros luminosos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.5, jan. 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/2012nahead/a13212cr5881.pdf>>. Acessado em: 11 dez. 2012.

GARAY, L. A. On the origin of the Orchidaceae II. **Journal of the Arnold Arboretum**, Boston, v.53, p.202-215, 1972.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Eds.). **Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos de Plantas**, Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPq, 1990. p.99-169.

HAZARIKA, B. N. Acclimatization of tissue-cultured plants. **Current Science**, Stanford, v.85, n.12, p.1704-1712, 2003.

HOEHNE, F. C. **Iconografia das Orchidaceas do Brasil**. São Paulo: Secretaria da Agricultura, 1949.

JONES, W. E.; KUEHNLE, A. R.; ARUMUGANATHAN, K. Nuclear DNA content of 26 orchid (Orchidaceae) genera with emphasis on *Dendrobium*. **Annals Botany**, New York, v.82, n.2, p.189-194, 1998.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Análise conjuntural do comércio do comércio exterior da floricultura brasileira. **Ibraflor**, Holambra. 2010. Disponível em: <<http://www.ibraflor.com/publicacoes/vw.php?cod=8>>. Acessado em: 2 set. 2012.

KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. 2.ed. Guaíba: Agropecuária, 2005. 254p.

KERBAUY, G. B. Micropropagação comercial de orquídeas: conquistas, desafios e perspectivas. In: GERALD, L. T. S. **Biofábrica de plantas: produção industrial de plantas *in vitro***. São Paulo: Antiqua. 2011. 383p.

KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata* cv. 'Grande Naine'). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.55, n.2, p.141-14, 1999.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas Ornamentais no Brasil**. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 1120p.

MAJEROWICZ N.; PERES, L. E. P. Fotomorfogênese em plantas. In: KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2008. 431p.

MATTIUZ, C. F. M.; RODRIGUES, T. J. D.; MATTIUZ, B. Aspectos fisiológicos de orquídeas cortadas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.12, p.21-30, 2006.

MOURA, L.C.; TITON, M.; FERNANDES, J. S. C.; SANTANA, R. C.; OLIVEIRA, M. L. R. Micropropagação de sucupira-preta por meio de gemas axilares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, EMBRAPA, v.47, p.691-1698, 2012.



NASCIMENTO, A. C.; PAIVA, R.; ABBADE, L. C.; VARGAS, D. P.; SOARES, F. P. Micropropagação de uvaieira (*Eugenia pyriformis* Cambess): efeitos do BAP e AIB. **Revista Verde**, Mossoró, v.3, n.2, p.20-26, 2008.

OTONI, W. C.; BLACKHALL, N.; D'UTRA VAZ, F. B.; CASALI, V. W. D.; POWER, J. B.; DAVEY, M. R. Somatic hybridization between *Passiflora* species, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. and *P. incarnata* L. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v.46, p.777-785, 1995.

RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 2010. 570p.

ROMANO, A.; MARTINS-LOUÇÃO, M. A. Water loss and morphological modifications in leaves during acclimatization of cork oak micropropagated plantlets. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v.616, p.439-442, 2003.

SCHUCK, M. R.; LIPSKI, B.; SILVA, A. L. L. da; CARVALHO, D. C.; BIASI, L. A. Aclimatização de plantas micropropagadas de videira cv. Bordô (*Vitis labrusca* L.) em diferentes substratos. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Gurupi, v.3, p.206-212, 2012.

SOUZA SOBRINHO, F.; PEREIRA, A.V.; LÉDO, F.J.S.; OLIVEIRA, J.S.; VARGAS, S.M. Aclimatização de germoplasma de capim-elefante, pós cultivo *in vitro*. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v.31, p.11-15, 2007.

STOUTAMIRE, W. P. Seeds and seedling of native orchids. **Michigan Botanist**, Michigan, v.3, n.4, p.104-19, 1964.

TANAKA, M.; TAKAMURA, T.; WATANABE, H.; ENDO, M.; YANAGI, T.; OKAMOTO, K. *In vitro* growth of *Cymbidium* plantlets cultured under super bright red and blue light-emitting diodes (LEDs). **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v.73, p.39-44, 1998.

TAVEIRA, J. A. M. Novas tecnologias na aclimatização, formação e manejo de mudas. In: GERALD, L.T.S. **Biofábrica de plantas**: produção industrial de plantas *in vitro*. São Paulo: Antiqua, 2011. 383p.

TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. **Micropropagação de Plantas Ornamentais**. Campinas: Instituto Agronômico. 1998. 72p.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; ARAÚJO, A. G.; PIO, L. A. S. Micropropagação da amoreira-preta (*Rubus* spp.) e efeito de substratos na aclimatização de plantas. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.28, n.1, p.47-53, 2006.

## CAPÍTULO I – ACLIMATIZAÇÃO INTERMEDIÁRIA NA PRODUÇÃO DE *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree.

### RESUMO

O experimento foi realizado no Laboratório de cultivo *in vitro* e na área de Jardinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) para avaliar diferentes condições de luminosidade na aclimatização de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree. Foram utilizadas, como material de estudo, plantas com 180 dias, oriundas de sementeira *in vitro* (padronizadas quanto ao tamanho e caracterizadas quanto à massa fresca, número de folhas, comprimento de pseudobulbo, diâmetro do maior pseudobulbo, número de pseudobulbos e comprimento da maior raiz), plantadas em recipiente de polipropileno sendo utilizado como substrato a mistura de esfagno e fibra de coco (1:1 v v<sup>-1</sup>). Após o plantio, um conjunto de 40 plantas foi acondicionado diretamente em viveiro coberto pela sobreposição de duas telas de sombreamento de 50% (162,0  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e três conjuntos de 40 plantas cada, foram transferidos para sala de crescimento com fotoperíodo e temperatura controlados (12 h; 25  $\pm$  2 °C), sendo submetidos à aclimatização intermediária, por 30 dias, sob as seguintes condições de luminosidade: 1- luz fluorescente branca (18,9  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); 2- luz fluorescente branca + luz fluorescente vermelha (14,85  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e 3- luz fluorescente vermelha (9,45  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Posteriormente ao período de aclimatização intermediária, as plantas foram caracterizadas anatomicamente e transferidas para o viveiro que continha o controle. Após 12 meses do plantio, as plantas foram avaliadas quanto às mesmas características, sendo calculadas as porcentagens de seus incrementos em relação aos valores iniciais. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos e 40 repetições com uma planta. Apenas as plantas submetidas à aclimatização intermediária, com luz vermelha, foram estatisticamente superiores ao controle em relação à porcentagem de sobrevivência e incremento em massa fresca, enquanto que o controle apresentou maior número de raízes que as plantas aclimatizadas nessa condição de luminosidade. Para as demais variáveis estudadas não houve diferença estatística entre os tratamentos. A aclimatização intermediária, em sala de crescimento por 30 dias, utilizando luz branca, vermelha ou a combinação dessas, é recomendada para *D. phalaenopsis* Deang Suree.

**Palavras-chave:** Orchidaceae, Floricultura, Condições de luminosidade

**INTERMEDIATE ACCLIMATIZATION IN PRODUCTION *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree.**

**ABSTRACT**

The experiment was conducted at the Laboratory of *in vitro* and in Jardinocultura area of the Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) - Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) to evaluate different luminosity conditions in the acclimatization of *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree. Were used as study material, plants with 180 days originating from *in vitro* sowing (standardized in size and characterized to fresh weight, number of leaves, pseudobulb length, diameter of the largest pseudobulb, number of pseudobulbs and length of root) planted in polypropylene container, being used as substrate a mixture of sphagnum and coconut fiber (1:1 v v<sup>-1</sup>). After planting, a set of 40 plants was placed directly in the greenhouse covered by two 50 % shade screens (162,0 mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) and three sets of 40 plants each were transferred to growth room with controlled temperature and photoperiod (12 h, 25 ± 2 °C) and submitted to intermediate acclimatization for 30 days under the following luminosity conditions: 1 - white fluorescent light (18,9 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) 2 - white fluorescent light + red fluorescent light (14,85 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) and 3 - red fluorescent light (9,45 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). After to intermediate acclimatization period, the plants were characterized anatomically and transferred to the greenhouse containing control. Twelve months after planting, the plants were evaluated for the same characteristics, and calculated the percentage of increments relative to the initial values. We used a completely randomized design with four treatments and 40 repetitions of one plant each. Only plants subjected to intermediate acclimatization, with red light, were statistically better to the control in relation to the survival percentage and increase in fresh weight, while the control had a higher number of roots that the plants acclimatized in this luminosity conditions. For the other variables studied there was no statistical difference among the treatments. Acclimatization intermediate in growth room for 30 days, using white light, red or a combination of these, is recommended for *D. phalaenopsis* Deang Suree.

**Keywords:** Orchidaceae, Floriculture, Luminosity conditions

## 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Dendrobium* é constituído por aproximadamente 1.500 espécies, quase todas epífitas, com ampla distribuição geográfica. Constitui-se de plantas de fácil cultivo, adaptáveis a todos os tipos de clima, sendo que a maioria floresce do final do inverno ao início da primavera (LORENZI et al., 2008; FARIA, 2010). No Mato Grosso do Sul, *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree produz hastes com 8 a 16 botões florais, dependendo da idade da planta, e suas flores, quando abertas, apresentam diâmetro em torno de 5 cm, florescendo entre março e julho durante aproximadamente 30 dias.

A maioria das orquídeas é propagada por técnicas de cultivo *in vitro*. Apesar do sucesso dessas técnicas, um número expressivo de espécies dessa família, à semelhança de outras (HAZARIKA, 2003), não sobrevive à transferência das condições *in vitro* para o ambiente *ex vitro*.

A fase de aclimatização dessas plantas é bastante crítica e delicada, (TOMBOLATO e COSTA, 1998; FARIA, 2012) uma vez que, por serem ainda heterotróficas (apresentando baixa eficiência do sistema radicular, reduzida competência vascular, estômatos pouco ou não funcionais e cutícula mal formada), se expostas a ambiente com elevada demanda evaporativa apresentarão reduzida probabilidade de sobrevivência (DEBERGH, 1991; ROMANO e MARTINS-LOUÇÃO, 2003; TAVEIRA, 2011; FARIA, 2012). Desta forma, a utilização de tratamentos que antecedam a aclimatização muitas vezes é necessária.

BRAINERD e FUCHIGAMI (1981), VILLA et al., (2006), SOUZA SOBRINHO et al., (2007), NASCIMENTO et al., (2008), SCHUCK et al., (2012), elevaram a taxa de sobrevivência de plantas cultivadas *in vitro* removendo as tampas dos frascos, ainda em sala crescimento, por 2 a 5 dias antes do transplante *ex vitro*, submetendo as plantas à umidade relativa mais baixa, resultando na adaptação mais rápida dos estômatos do que em plantas transplantadas diretamente para a casa de vegetação.

Já GRATTAPAGLIA e MACHADO (1990), OTONI et al., (1995), COSTA et al., (2007), MOURA et al., (2012), propiciaram adaptação progressiva de plantas recém retiradas dos recipientes de cultivo hermético transferindo-as para substrato de cultivo *ex vitro* cobrindo-as com polipropileno transparente provido de orifícios para ventilação, criando um ambiente com umidade relativa mais alta que o do viveiro.

Como a maioria das orquídeas epífitas é componente de florestas tropicais úmidas (RICKLEFS, 2010), sendo expostas às baixas intensidades luminosas, a condição de luminosidade é outro fator que influencia a sua aclimatização já que acarreta respostas metabólicas, modulando a morfogênese de tecidos e órgãos das plantas em todas as etapas do desenvolvimento (DÍAZ-PÉREZ et al., 1995; TAVEIRA, 2011).

A luz é responsável pelos processos de fotossíntese, fotomorfogênese e fototropismo. Na fotossíntese os picos correspondem aos comprimentos de onda relativos ao azul (425 - 490 nm) e ao vermelho (650 - 680 nm). O vermelho, juntamente com o vermelho extremo (picos entre 710 - 740 nm) são responsáveis pelos processos de morfogênese, enquanto que o azul, o violeta (picos entre 400 - 425 nm) e o ultravioleta (picos entre 280 - 400 nm) ativam o fototropismo (KÄMPF, 2005; MAJEROWICZ e PERES, 2008).

A maioria das salas de crescimento para cultivo *in vitro* utiliza lâmpadas fluorescentes brancas (400 - 600 nm) que são desprovidas de ondas na faixa do vermelho (KÄMPF, 2005). Devido à importância da luz vermelha na fotomorfogênese, diversos autores têm analisado este comprimento de onda como forma de propiciar maior crescimento e desenvolvimento de algumas plantas.

A utilização de luz vermelha promoveu o alongamento de plantas de *Cattleya loddigesii* cultivadas *in vitro* (ARAÚJO et al., 2009), o aumento do comprimento de broto para um híbrido de *Cattleya* (CYBULARZ-URBAN et al., 2007) e a utilização de LED (light-emitting diodes) azul e vermelha propiciaram aumento no crescimento de plantas de *Cymbidium* (TANAKA et al., 1998). Em contrapartida, a utilização de luz vermelha, reduziu o comprimento da maior raiz e aumentou o índice de mortalidade de *Cattleya loddigesii* durante a fase de aclimatização (GALDIANO JUNIOR et al., 2012).

Em vista do exposto, objetivou-se com esse trabalho avaliar o efeito da aclimatização intermediária com diferentes condições de luminosidade na produção de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de cultivo *in vitro* e na área de Jardinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) nas coordenadas de 22° 11' S e 54° 56' W, com altitude de 446 m, durante o período de julho de 2011 a julho de 2012. O clima é do tipo Am de Köppen (Tropical Monçônico), com temperatura média no mês mais frio inferior a 18°C e no mais quente superior a 22°C (SOUZA, 2012) e precipitação total anual entre 1250 e 1500 mm.

Foram utilizadas, como material de estudo, plantas de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree, com 180 dias, oriundas de sementeira *in vitro*, cultivadas em meio MS e mantidas em sala de crescimento com temperatura média de  $25 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 horas, com intensidade luminosa de  $18,9 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  obtida por meio de duas lâmpadas brancas fluorescentes de 40 W cada.

As plantas foram retiradas dos frascos de cultivo, lavadas em água corrente, até total remoção do meio de cultura, e padronizadas quanto ao tamanho. A seguir, foram avaliadas quanto à massa fresca, número de folhas, comprimento do maior pseudobulbo, diâmetro do maior pseudobulbo, número de pseudobulbos e comprimento da maior raiz.

Na sequência, cada indivíduo foi plantado em recipiente de polipropileno com volume igual a  $50 \text{ cm}^3$ , provido de furos para drenagem, sendo utilizado como substrato a mistura de esfagno e fibra de coco (1:1 v v<sup>-1</sup>).

Após o plantio, um conjunto de 40 plantas foi acondicionado diretamente em viveiro coberto pela sobreposição de duas telas de sombreamento de 50% ( $162,0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), provido de sistema de irrigação por microaspersão por alta pressão não sendo submetido à aclimatização intermediária e considerado como controle.

Três conjuntos, de 40 plantas cada, foram transferidos para sala de crescimento com fotoperíodo e temperatura controlados (12 h;  $25 \pm 2$  °C), sendo submetidos à aclimatização intermediária, por 30 dias, sob as seguintes condições de luminosidade propiciadas por diferentes lâmpadas: 1- luz fluorescente branca (B) ( $18,9 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); 2- luz fluorescente branca + luz fluorescente vermelha (GRO-LUX<sup>®</sup>) (BV) ( $14,85 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e 3- luz fluorescente vermelha (GRO-LUX<sup>®</sup>) (V) ( $9,45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

$\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Após o período de aclimatização intermediária, as plantas foram transferidas para o viveiro que continha o controle.

Para analisar anatomicamente os efeitos da aclimatização intermediária, amostras de tecidos foliares de plantas submetidas às diferentes condições de luminosidade em sala de crescimento, foram coletadas e comparadas com plantas recém removidas da condição *in vitro*. As folhas foram cortadas em fragmentos de 5 mm, fixadas em F.A.A. (formaldeído 35%, ácido acético glacial e etanol 50%), e armazenadas em geladeira até o início do processo de desidratação em série alcoólica progressiva com álcool butílico terciário (DANKIN e HUSSEY, 1985). Após este processo os fragmentos foliares foram infiltrados em parafina e, posteriormente, em *paraplast*. Foram feitos cortes transversais de 10  $\mu\text{m}$  de espessura em micrótomo rotativo manual, que foram corados com safranina-*orange G-fast Green* FCF (HAGQUIST, 1974). Depois de serem montadas as lâminas permanentes, as imagens foram analisadas utilizando o aplicativo computacional (*AxioVision* versão 3.1), acoplado ao microscópio de ocular micrométrica.

Durante a aclimatização definitiva, semanalmente, as plantas foram adubadas com NPK 10-10-10 (2,0  $\text{mL L}^{-1}$ ) via foliar, e irrigadas com uma lâmina de água de 3 mm, dividida em três aplicações de 1mm cada, sendo descontados os volumes das precipitações pluviométricas.

Após 12 meses do plantio, as plantas foram avaliadas quanto à porcentagem de sobrevivência e a seguir foram removidas do substrato, lavadas em água corrente e avaliadas quanto à massa fresca, número de folhas, comprimento de pseudobulbo, diâmetro do maior pseudobulbo, número de pseudobulbos, comprimento da maior raiz e número final de raízes. Dado o interesse em investigar a hipótese de aumento nos parâmetros avaliados (à exceção do número de raízes) foram calculadas as porcentagens de seus incrementos em relação aos valores iniciais e essas porcentagens foram consideradas nas análises estatísticas.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos e quarenta repetições com uma planta. Para análise estatística utilizou-se o aplicativo computacional SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2010) e todas as variáveis foram avaliadas mediante análise de variância e posteriormente as médias foram comparadas por meio do teste Tukey até o nível de 5% de probabilidade.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) das condições de luminosidade sobre a porcentagem de sobrevivência, sobre o incremento em massa fresca e sobre o número de raízes de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree. Para as demais variáveis não houve efeito dos tratamentos ( $p > 0,05$ ) e os valores observados são apresentados no Quadro 1.

QUADRO 1. Porcentagem de sobrevivência (SOBR), número de raízes final (NRF), incrementos na massa fresca (IMF), no comprimento de pseudobulbo (ICB), no diâmetro de pseudobulbo (IDB), no comprimento da maior raiz (ICMR), no número de folhas (INF) e no número de pseudobulbos (INB), de *D. phalaenopsis* Deang Suree, após 12 meses. Dourados - MS, UFGD, 2012.

Trat.	SOBR (%)	NRF	IMF (%)	ICB (%)	IDB (%)	ICMR (%)	INF (%)	INB (%)
Controle	60,0b	15,9a	1056,5b	212,6a	233,8a	547,6a	69,2a	157,1a
BV	75,0ab	13,1ab	1125,4ab	254,8a	154,8a	436,7a	98,8a	150,0a
B	75,0ab	11,6b	1224,7ab	198,9a	160,7a	618,7a	71,0a	135,1a
V	87,5a	12,1ab	1448,3a	220,8a	131,4a	458,0a	55,9a	117,4a
CV(%)	50,45	16,83	16,96	21,32	22,36	26,09	21,10	22,08
Média	74,37%	13,0	1236,9%	225,6%	163,9%	503,5%	75,8%	139,2%

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si (Tukey 5% de probabilidade).

BV = luz fluorescente branca + luz fluorescente vermelha ( $14,85 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); B = luz fluorescente branca ( $18,9 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); V = luz fluorescente vermelha ( $9,45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

As maiores médias de porcentagem de sobrevivência e de incrementos em massa fresca, após um ano de aclimatização em viveiro, foram observadas em plantas que receberam tratamento com luz fluorescente vermelha (V), que não diferiram estatisticamente das tratadas com luz fluorescente branca + luz fluorescente vermelha (BV) e daquelas submetidas a luz fluorescente branca (B) durante o período de aclimatização intermediária. O tratamento controle apresentou a taxa de sobrevivência e de incremento em massa fresca diferentes estatisticamente ( $p < 0,05$ ) apenas do tratamento V (Quadro 1).

Independentemente da condição de luminosidade utilizada na aclimatização intermediária, a porcentagem de sobrevivência das plantas submetidas a este pré-tratamento foi igual ou superior a 75 %, valor este considerado bastante satisfatório para cultivos comerciais. A prática da aclimatização intermediária com luz V propiciou um



acréscimo percentual de 27,5 % acima das plantas do controle, diferença esta estatisticamente significativa (Quadro 1).

Os resultados relativos à porcentagem de sobrevivência observados nesse trabalho diferem dos obtidos por Galdiano Junior et al. (2012). Os autores verificaram que plantas de *Cattleya loddigesii* Lindl. cultivadas *in vitro* sob luz vermelha (obtida através de uma folha de papel celofane que envolvia o frasco de cultivo localizado sob luz fluorescente branca), apresentaram maior índice de mortalidade durante aclimatização *ex vitro*, atribuindo esses resultados à menor quantidade de raízes, ao menor teor e ao desbalanço do tipo de clorofilas produzido pelas plantas, quando cultivadas nessas condições.

Os menores valores de IMF no controle devem-se, provavelmente, à alta desidratação sofrida pelas plantas no início da aclimatização, o que diminuiu também a porcentagem de sobrevivência daquelas submetidas a esse tratamento.

O maior número de raízes foi produzido por plantas que não foram submetidas à aclimatização intermediária, resultados esses estatisticamente iguais aos observados em plantas aclimatizadas em luz BV e com luz V. As plantas aclimatizadas com luz B apresentaram os menores números de raízes em relação ao controle (Quadro 1) resultados estes que diferem dos relatados por Galdiano Junior et al. (2012) e Araujo et al. (2009) que registraram menor número de raízes em *Cattleya loddigesii* Lindl. cultivadas sob luz vermelha.

Os resultados relativos ao incremento de massa fresca, porcentagem de sobrevivência e número de raízes registrados no controle permitem inferir que, o estresse da aclimatização induz a formação de maior número de raízes, uma vez que estes órgãos são responsáveis pela fixação da planta no novo substrato além de suprirem as necessidades hídricas e nutricionais da planta.

A radiação vermelha, de modo geral, promove alongamento de parte aérea, uma vez que é absorvida pelos fitocromos que são responsáveis pela germinação de sementes fotoblásticas positivas, crescimento caulinar e controle fotoperiódico do florescimento (MAJEROWICZ e PERES, 2008).

Este fato já foi constatado em estudos com *Azorina vidalli*, (MOREIRA da SILVA e DEBERGH, (1997); *Disanthus cercidifolius* e em cultivares de *Rhododendron* MARKS e SIMPSON, (1999); *Prunus* sp. (MULEO, 2001) e em *Cattleya lodigessi* (ARAUJO et al., 2009). Entretanto *D. phalaenopsis* Deang Suree não respondeu

significativamente quanto ao comprimento dos pseudobulbos, em relação aos tratamentos estudados.

Independentemente dos tratamentos utilizados, o incremento em massa fresca das plantas foi superior a 1000 %, e os demais incrementos foram todos positivos (ICB = 225,6 %; IDB = 163,9 %; ICMR = 503,5 %; INF = 75,8 %; INB = 139,2 %) (Quadro 1), indicando que as condições oferecidas à espécie são satisfatórias para o primeiro ano de aclimatização *ex vitro*.

Os resultados obtidos neste trabalho podem ser devido ao fato de plantas aparentemente perfeitas *in vitro*, apresentarem uma série de mudanças morfológicas anatômicas e fisiológicas. Nessas plantas, os estômatos não são funcionais e respondem lentamente ao estresse hídrico. Além disso, a camada de cera protetora sobre as folhas é mínima ou inexistente, e a conexão entre o sistema vascular do caule e das raízes adventícias ainda é precária para permitir um fluxo transpiratório adequado (BRAINERD e FUCHIGAMI, 1981; DÍAZ-PÉREZ et al., 1995; FARIA, 2012).

Independente do tratamento utilizado, cortes transversais das folhas de *D. phalaenopsis* Deang Suree apresentaram células epidérmicas unisseriadas da face adaxial maiores que da face abaxial, além de cutícula delgada ou inexistente (Figura 1 A, B, C e D). Segundo Stern e Judd (2001) em geral, as folhas de orquídeas apresentam clorênquima homogêneo, o que foi constatado neste experimento, já que em todas as lâminas não foi possível delimitar os parênquimas.

Apesar da homogeneidade do clorênquima, as plantas submetidas a aclimatização intermediária apresentaram as células que compõem o mesofilo mais organizadas, os feixes vasculares mais evidentes e estruturados e as células epidérmicas mais organizadas. A organização das células epidérmicas, em vista frontal, apresentou-se alongada longitudinalmente na face adaxial, e arredondada na face abaxial. (Figura 1 B, C e D). Entretanto, em plantas recém removidas do cultivo *in vitro* (Figura 1A) as células que compõem o mesofilo e a epiderme apresentam certa desorganização além de feixes vasculares pouco desenvolvidos.

Segundo Hazarika (2006), o mesofilo pouco diferenciado e o frágil sistema vascular das folhas formadas *in vitro* tornam essas plantas altamente susceptíveis ao estresse durante a aclimatização. Fica claro que em *D. phalaenopsis* Deang Suree a melhor organização celular do mesofilo bem como a melhor estruturação dos feixes vasculares obtida após trinta dias da aclimatização intermediária pode ter reduzido o estresse e facilitado a aclimatização.

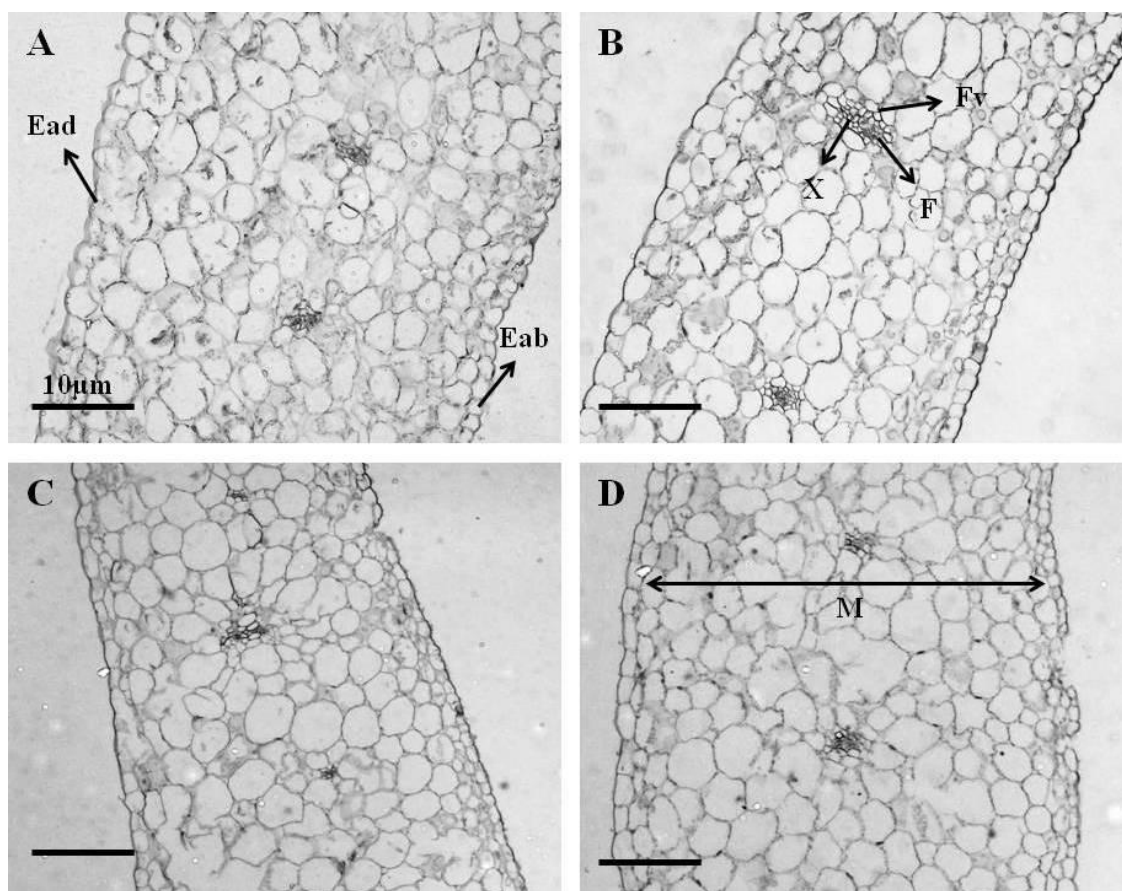


FIGURA 1. Cortes transversais de regiões medianas de folhas de *D. phalaenopsis* Deang Suree submetido a diferentes condições luminosas: (A) Planta recém removida da condição in vitro. Plantas oriundas de aclimatização intermediária, por 30 dias, com: (B) Luz branca; (C) Luz branca + vermelha e (D) Luz vermelha. Epiderme da face adaxial (Ead), Epiderme da face abaxial (Eab), Feixe vascular (Fv), Xilema (X), Floema (F) e Mesofilo (M). Dourados - MS, UFGD, 2012.

#### 4. CONCLUSÃO

A aclimatização intermediária, em sala de crescimento por trinta dias, utilizando luz branca, vermelha ou a combinação dessas, é recomendada para *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BRAINERD, K. E. e FUCHIGAMI, L. H. Acclimatization of aseptically cultured apple plants to low relative humidity. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.106, p.515-518, 1981.

COSTA, N. P.; DAMIÃO FILHO, C. F.; COSTA, N. P.; BATISTA, J. L. Semeadura *in vitro* e aclimatização de plântulas de caramboleira. **Revista Ciências Agrárias**, Pernambuco, n.47, p. 211-220, 2007.

CYBULARZ-URBAN, T.; HANUS-FAJERSKA, E.; SWIDERSKI, A. Effect of light wavelength on *in vitro* organogenesis of a *Cattleya* hybrid. **Acta Biologica Cracoviensia**, Cracow, v.49, n.1, p.113-118, 2007.

DANKIN, M. E.; HUSSEY, R. S. Staining and histopathological techniques in nematology. In: BARKER, K. R.; CARTER, C. C.; SASSER, J.N. (Eds.). **An advanced treatise on Meloidogyne**. Raleigh: North Carolina State University, 1985. p.39-48.

DEBERGH, P. C. Acclimatization techniques of plants from *in vitro*. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.289, p.291-300, 1991.

DIÁZ-PÉREZ, J.; SHACKEL, K. A.; SUTTER, G. G. Acclimatization and subsequent gas exchange, water relations, survival and growth of microculture apple plantlets after transplanting them in soil. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.9, p.225-232, 1995.

FARIA, R. T.; ASSIS, A. M.; CARVALHO, J. F. R. P. **Cultivo de orquídeas**. Londrina: Mecenias, 2010. 208p.

FARIA, R. T. **Produção de orquídeas em laboratório**. Londrina: Mecenias, 2012. 124p.

FERREIRA, D. F. Programa de análises estatísticas (*Statistical Analysis Software*) e planejamento de experimentos – SISVAR 5.3. Universidade Federal de Lavras, 2010.

GALDIANO JUNIOR, R. F.; MANTOVANI, C.; PIVETTA, K. F. L.; LEMOS, E. G. M. Crescimento *in vitro* e aclimatização de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae) com carvão ativado sob dois espectros luminosos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.5, jan. 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/2012nahead/a13212cr5881.pdf>>. Acessado em: 11 dez. 2012.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Eds.). **Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos de Plantas**, Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPH, 1990. p.99-169.

HAGQUIST, C. W. Preparation and care of microscopy slides. **American Biology Teacher**, McLean, v.36, p.414-417, 1974.

HAZARIKA, B. N. Acclimatization of tissue-cultured plants. **Current Science**, Stanford, v.85, n.12, p.1704-1712, 2003.

HAZARIKA, B. N. Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. **Scientia Horticulturae**, New Delhi, v.108, p.105-120, 2006.

KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. 2.ed. Guaíba: Agropecuária, 2005. 254p.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas Ornamentais no Brasil**. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 1120p.

MAJEROWICZ N.; PERES, L. E. P. Fotomorfogênese em plantas. In: KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2008. 431p.

MARKS, T. R.; SIMPSON, S. E. Effect of irradiance on shoot development *in vitro*. **Plant Growth Regulation**, v.28, p.133-142, 1999.

MOREIRA da SILVA, M. H.; DEBERGH, P. C.; The effect of light quality on the morphogenesis of *in vitro* cultures of *Azorina vidalii* (Wats.) Feer. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.51, p.187-193, 1997.

MOURA, L. C.; TITON, M.; FERNANDES, J. S. C.; SANTANA, R. C.; OLIVEIRA, M. L. R. Micropropagação de sucupira-preta por meio de gemas axilares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, EMBRAPA, v.47, p.691-1698, 2012.

MULEO, R.; MORINI, S.; CASANO, S. Photoregulation of growth and branching of plum shoots: physiological action of two photosystems. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, v.37, p.609-617, 2001.

NASCIMENTO, A. C.; PAIVA, R.; ABBADE, L. C.; VARGAS, D. P.; SOARES, F. P. Micropropagação de uvaieira (*Eugenia pyriformis* Cambess): efeitos do BAP e AIB. **Revista Verde**. Mossoró, v.3, n.2, p.20-26, 2008.

OTONI, W. C.; BLACKHALL, N.; D'UTRA VAZ, F. B.; CASALI, V. W. D.; POWER, J. B.; DAVEY, M. R. Somatic hybridization between *Passiflora* species, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. and *P. incarnata* L. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v.46, p.777-785, 1995.

RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 2010. 570p.

ROMANO, A.; MARTINS-LOUÇÃO, M. A. Water loss and morphological modifications in leaves during acclimatization of cork oak micropropagated plantlets. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v.616, p.439-442, 2003.

STERN, W. L.; JUDD, W. S. Comparative anatomy and systematics of Catasetinae (Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 136, p. 153-178, 2001.

SOUZA, F. R. **Influência da intensidade do tráfego e de sistemas de manejo nas propriedades físicas do solo e nas culturas de soja e girassol**. 2012. 78p. Tese (Doutorado em Agronomia-Produção Vegetal), Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS.

SOUZA SOBRINHO, F.; PEREIRA, A. V.; LÉDO, F. J. S.; OLIVEIRA, J. S.; VARGAS, S. M. Aclimatização de germoplasma de capim-elefante, pós cultivo *in vitro*. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v.31, p.11-15, 2007.

SCHUCK, M. R.; LIPSKI, B.; SILVA, A. L. L. da; CARVALHO, D. C.; BIASI, L. A. Aclimatização de plantas micropropagadas de videira cv. Bordô (*Vitis labrusca* L.) em diferentes substratos. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Gurupi, v.3, p.206-212, 2012.

TANAKA, M.; TAKAMURA, T.; WATANABE, H.; ENDO, M.; YANAGI, T.; OKAMOTO, K. *In vitro* growth of *Cymbidium* plantlets cultured under super bright red and blue light-emitting diodes (LEDs). **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v.73, p.39-44, 1998.

TAVEIRA, J. A. M. Novas tecnologias na aclimatização, formação e manejo de mudas. In: GERALD, L.T.S. **Biofábrica de plantas: produção industrial de plantas *in vitro***. São Paulo: Antiqua, 2011. 383p.

TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. **Micropropagação de Plantas Ornamentais**. Campinas: Instituto Agronômico. 1998. 72p.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; ARAÚJO, A. G.; PIO, L. A. S. Micropropagação da amoreira-preta (*Rubus* spp.) e efeito de substratos na aclimatização de plantas. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.28, n.1, p.47-53, 2006.

## CAPÍTULO II – LUMINOSIDADE E IMERSÃO EM ÁGUA NA ACLIATIZAÇÃO INTERMEDIÁRIA DE *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree

### RESUMO

O experimento foi realizado no Laboratório de cultivo *in vitro* e na área de Jardinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) para estudar o efeito conjunto do período de imersão de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree em água destilada e de duas condições de luminosidade em tratamentos de pré-aclimatização. Foram utilizadas plantas com 180 dias, oriundas de sementeira *in vitro* (padronizadas quanto ao tamanho e caracterizadas quanto à massa fresca, número de folhas, comprimento de pseudobulbo, diâmetro do maior pseudobulbo, número de pseudobulbos e comprimento da maior raiz). Na sequência, as plantas foram divididas aleatoriamente em conjuntos de 40 plantas cada. Um conjunto, considerado controle, não foi submetido à imersão e as plantas dos demais foram imersas em água destilada por 12; 24; 36; 48; 60; 72 ou 84 horas. Após cada período de imersão as plantas foram transferidas para recipientes de polipropileno contendo, como substrato, a mistura de esfagno e fibra de coco (1:1 v v<sup>-1</sup>). As plantas foram alocadas em sala de crescimento com fotoperíodo e temperatura controlados (12 h; 25 ± 2° C), por 30 dias, para a aclimatização intermediária. Durante esse período as plantas foram submetidas a duas condições de luminosidade. Um conjunto de 20 plantas de cada período de imersão e do controle permaneceu sob luz fluorescente branca (B) (18,9 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e as outras 20 plantas permaneceram sob luz fluorescente branca + luz fluorescente vermelha (GRO-LUX<sup>®</sup>) (BV) (14,85 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). Após este período as plantas foram submetidas à aclimatização definitiva em viveiro telado (162,0 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) por 10 meses quando foram avaliadas quanto às mesmas características anteriormente citadas, sendo calculadas as porcentagens de seus incrementos em relação aos valores iniciais. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado e os tratamentos foram arranjos em esquema de parcela subdivididas, sendo alocados na parcela os oito períodos de imersão e, na subparcela, as duas condições de luminosidade, com 20 repetições de uma planta e todas as variáveis foram avaliadas mediante análise de variância. À medida que o tempo de imersão aumentou houve decréscimo nos incrementos de massa fresca e número de pseudobulbos bem como no número de raízes das plantas cultivadas sob luz branca + luz vermelha, enquanto que as plantas cultivadas sob luz branca não apresentaram resposta diferenciada em relação ao tempo de imersão. A ausência de imersão em água destilada independentemente da condição de luminosidade é benéfica para plantas de *D. phalaenopsis* Deang Suree.

**Palavras-chave:** Orchidaceae, Floricultura, Imersão, Condições de luminosidade



**LUMINOSITY AND WATER IMMERSION IN THE INTERMEDIATE  
ACCLIMATIZATION FOR *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree**

**ABSTRACT**

The experiment was conducted at the Laboratory of *in vitro* and in Jardinocultura area of the Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) - Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) to study the combined effect of the immersion time of *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree in distilled water and two light conditions in the treatment of pre acclimatization. Were used as study material, plants with 180 days originating from *in vitro* sowing (standardized in size and characterized to fresh weight, number of leaves, pseudobulb length, diameter of the largest pseudobulb, number of pseudobulbs and length of root). After, the plants were divided into sets of 40 plants each. A set, regarded as control, was not submitted to immersion and the other plants were immersed in distilled water for 12; 24; 36; 48; 60; 72 or 84 hours. After each immersion period the plants were transferred to polypropylene container containing as substrate a mixture of sphagnum and coconut fiber (1:1 v v<sup>-1</sup>). The plants were allocated in growth room with controlled temperature and photoperiod (12 h, 25 ± 2 °C) during 30 days for intermediate acclimatization. During this period the plants were subjected to two luminosity conditions. A set of 20 plants of each period of immersion and control stayed under white fluorescent light (18,9 mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) and the other 20 plants remained under white fluorescent light + red fluorescent light (14,85 mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). After this period, the plants were subjected to the definitive acclimatization in greenhouse (162,0 mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) for 10 months when they were evaluated for the same characteristics previously mentioned, are calculated the percentages of increments of their initial values. We used a completely randomized design and treatments were arranged in as split plot, the plot being allocated the eight periods of immersion, and the split plot, the two luminosity conditions with 20 repetitions of one plant each and all variables were evaluated by analysis of variance. With the increase of immersion time was decreased in increments of fresh weight and number of pseudobulbs as well as the number of roots of plants grown under white light + red light, while plants grown under white light didn't present response over the immersion time. The immersion default in distilled water independently of the luminosity condition is beneficial to plants of *D. phalaenopsis* Deang Suree.

**Keywords:** Orchidaceae, Floriculture, Immersion, Luminosity conditions

## 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Dendrobium* constitui-se de plantas de fácil cultivo que florescem em grande escala, e juntamente com os gêneros *Oncidium*, *Cymbidium*, *Phalaenopsis* e *Cattleya* é promissor para o comércio de flores de corte (MATTIUZ et al., 2006).

As orquídeas são usualmente multiplicadas por técnicas de cultivo *in vitro*. Apesar do sucesso dessas técnicas, Hazarika (2003) enfatiza que um número expressivo de espécies vegetais micropropagadas não sobrevive às condições *ex vitro*. Isso ocorre devido à elevada umidade relativa do ar (90 – 100%), baixa irradiação e limitados potenciais osmóticos, além de baixa troca de CO<sub>2</sub>, que contribuem para uma alta taxa de multiplicação, mas também induzem o aparecimento de anormalidades anatômicas, morfológicas e fisiológicas (CAMPOSTRINI e OTONI, 1996; TOMBOLATO e COSTA, 1998; TORRES et al., 2001; GUERRA e NODARI, 2006; MOREIRA et al., 2007; FARIA, 2012).

*Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree apresenta boa porcentagem de germinação e desenvolvimento em meio assimbiótico, entretanto a sua adaptação *ex vitro* ainda requer estudos, uma vez que o grande número de indivíduos produzidos por frasco de cultivo, muitas vezes inviabiliza o seu transplante imediato para os substratos de aclimatização ocasionando a desidratação das plantas produzidas com conseqüente morte ou retardamento no processo de crescimento e desenvolvimento.

Alguns procedimentos que antecedem a aclimatização em viveiros são relatados como forma de elevar a taxa de sobrevivência das plantas, evitando que elas se desidratem e murchem durante e após o transplante. Brainerd e Fuchigami (1981), Villa et al., (2006), Souza Sobrinho et al., (2007), Nascimento et al., (2008) e Schuck et al., (2012) elevaram a taxa de sobrevivência de plantas micropropagadas removendo as tampas dos frascos de cultivo, ainda em sala crescimento, por 2 a 5 dias antes do transplante. Grattapaglia e Machado (1990), Otoni et al., (1995), Costa et al., (2007) e Moura et al., (2012) propiciaram um ambiente com umidade relativa mais alta que o do viveiro, cobrindo, com polipropileno transparente provido de orifícios para ventilação, as plantas recém retiradas dos recipientes de cultivo *in vitro*.

Rosa et al. (2005), registraram aumento na porcentagem de sobrevivência do híbrido de *Dendrobium phalaenopsis* var. *schroederianum* x *Dendrobium bigibbum*

var. compactum quando as plantas foram imersas em água por 48 e 96 horas, sendo observadas 85 e 100% de sobrevivência, respectivamente para esses tempos de imersão.

A condição de luminosidade é outro fator que influencia a aclimatização da maioria das orquídeas epífitas, que por serem componente de florestas tropicais úmidas (RICKLEFS, 2010), são expostas às baixas intensidades luminosas (DÍAZ-PÉREZ et al., 1995; TAVEIRA, 2011).

A percepção do sinal luminoso pelas plantas requer que a luz seja absorvida e se torne metabolicamente ativa, o que é efetuado pelos fotorreceptores ou pigmentos especializados, responsáveis pelas respostas fotomorfogênicas das plantas. Entre os pigmentos que podem promover essas respostas nas plantas, os mais importantes são os fitocromos que absorvem principalmente o vermelho e o vermelho-extremo (picos máximos de absorção entre 650 - 680 e 710 - 740 nm, respectivamente) e os criptocromos que absorvem o azul e o ultravioleta (picos máximos de absorção entre 425 - 490 e 320 - 400 nm, respectivamente) (MAJEROWICZ e PERES, 2008).

Na fotossíntese são utilizados os comprimentos de onda relativos ao azul e ao vermelho, os comprimentos vermelho e vermelho extremo ativam os processos de morfogênese, enquanto que o azul, o violeta e o ultravioleta ativam o fototropismo (KÄMPF, 2005; MAJEROWICZ e PERES, 2008). Devido à importância da luz vermelha na fotomorfogênese, diversos autores têm analisado este comprimento de onda como forma de propiciar maior crescimento e desenvolvimento de plantas cultivadas *in vitro*.

A utilização de luz vermelha promoveu o alongamento de plantas de *Cattleya loddigesii* cultivadas *in vitro* (ARAÚJO et al., 2009), o aumento do comprimento de broto para híbrido de *Cattleya* (CYBULARZ-URBAN et al., 2007) e a utilização de LED (light-emitting diodes) azul e vermelha propiciaram aumento no crescimento de plantas de *Cymbidium* (TANAKA et al., 1998). Em contrapartida, a utilização de luz vermelha, reduziu o comprimento da maior raiz e aumentou o índice de mortalidade de *Cattleya loddigesii* durante a aclimatização (GALDIANO JUNIOR et al., 2012).

Em vista do exposto objetivou-se com esse trabalho estudar o efeito conjunto do período de submersão de plantas em água destilada e de duas condições de luminosidade em tratamentos de pré-aclimatização para *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de cultivo *in vitro* e na área de Jardinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) nas coordenadas de 22° 11' S e 54° 56' W, com altitude de 446 m, durante o período de agosto de 2011 a julho de 2012. O clima é do tipo Am de Köppen (Tropical Monçônico), com temperatura média no mês mais frio inferior a 18°C e no mês mais quente superior a 22 °C (SOUZA, 2012) e precipitação total anual entre 1250 e 1500 mm.

Foram utilizadas, como material de estudo, plantas de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree, com 180 dias, oriundas de semeadura *in vitro*, cultivadas em meio MS e mantidas em sala de crescimento com temperatura média de  $25 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 horas, com intensidade luminosa de  $18,9 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  obtida por meio de duas lâmpadas brancas fluorescentes de 40 W cada.

As plantas foram retiradas dos frascos de cultivo, lavadas em água corrente, até total remoção do meio de cultura, e padronizadas quanto ao tamanho. A seguir, foram avaliadas quanto à massa fresca, número de folhas, comprimento do maior pseudobulbo, diâmetro do maior pseudobulbo, número de pseudobulbos e comprimento da maior raiz.

Na sequência, as plantas foram divididas aleatoriamente em conjuntos de 40 plantas cada. Cada conjunto de plantas foi submetido a um período de imersão (12; 24; 36; 48; 60; 72 ou 84 horas), com a utilização de Beckers com capacidade para 500 ml, contendo 250 ml de água destilada estéril cada um, que foram acondicionados na sala de crescimento anteriormente descrita. A água de cada conjunto foi trocada a cada 12 horas. Após cada período de imersão as plantas foram transferidas para recipientes de polipropileno com volume igual a  $50 \text{ cm}^3$ , providos de furos para drenagem, contendo, como substrato, a mistura de esfagno e fibra de coco (1:1 v v<sup>-1</sup>). Um conjunto de plantas, considerado como controle, não foi submetido à imersão, sendo as plantas acondicionadas diretamente no substrato.

Cada recipiente, contendo uma planta, foi transferido para sala de crescimento com fotoperíodo e temperatura controlados (12 h;  $25 \pm 2$  °C), por 30 dias, para a aclimatização intermediária. Durante esse período as plantas foram submetidas a duas condições de luminosidade. Um conjunto de 20 plantas de cada período de imersão

e do controle permaneceu sob luz fluorescente branca (B) ( $18,9 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e as outras 20 plantas permaneceram sob luz fluorescente branca + luz fluorescente vermelha (GRO-LUX<sup>®</sup>) (BV) ( $14,85 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

Após o período de aclimatização intermediária as plantas foram transferidas para viveiro coberto pela sobreposição de duas telas de sombreamento de 50% ( $162,0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) para a aclimatização definitiva por 10 meses. Durante este período, semanalmente, as plantas foram adubadas com NPK 10-10-10 ( $2,0 \text{ mL L}^{-1}$ ) via foliar, e irrigadas com uma lâmina de água de 3 mm, dividida em três aplicações de 1mm cada, sendo descontados os volumes das precipitações pluviométricas.

Após o período de aclimatização definitiva, as plantas foram avaliadas quanto à porcentagem de sobrevivência e, a seguir, foram removidas do substrato, lavadas em água corrente e avaliadas quanto à massa fresca, número de folhas, comprimento de pseudobulbo, diâmetro do maior pseudobulbo, número de pseudobulbos, comprimento da maior raiz e número final de raízes.

Dado o interesse em investigar a hipótese de aumento na massa fresca, número de folhas, comprimento e diâmetro do maior pseudobulbo, número de pseudobulbos e comprimento da maior raiz das plantas cultivadas em relação aos valores iniciais, foram calculados as porcentagens de seus incrementos e estes valores foram considerados nas análises estatísticas.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado e os tratamentos foram arranjos em esquema de parcela subdivididas, sendo alocados na parcela os oito períodos de imersão e, na subparcela, as duas condições de luminosidade com 20 repetições de uma planta. Para análise estatística utilizou-se o aplicativo computacional SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2010). Todas as variáveis foram avaliadas mediante análise de variância e, posteriormente, as médias foram comparadas por meio do teste t de *Student* até o nível de 5% de probabilidade. Os fatores quantitativos foram avaliados por meio de regressão.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Interação significativa entre o tempo de imersão e a condição de luminosidade ( $p < 0,05$ ) foi observada sobre o número final de raízes e sobre os incrementos em massa fresca, comprimento de pseudobulbos e da maior raiz. Efeitos isolados do tempo de imersão ( $p < 0,01$ ) foram registrados para todas as variáveis estudadas, enquanto que a condição de luminosidade atuou isoladamente ( $p < 0,05$ ) sobre o número final de raízes e sobre o incremento no comprimento de pseudobulbos.

Quando as plantas de *D. phalaenopsis* foram submetidas à aclimatização intermediária com luz B, não houve efeito conjunto ( $p > 0,05$ ) do tempo de imersão e da condição de luminosidade sobre o número final de raízes e sobre as porcentagens de incrementos de massa fresca, comprimento de pseudobulbos e comprimento da maior raiz, que apresentaram médias de 10,5; 534,8 %; 124,7 % e 235,6 %, respectivamente (Figura 1A, B, C e D).

Quando as plantas foram submetidas à aclimatização intermediária com luz BV, à medida que o tempo de imersão aumentou houve decréscimo dos incrementos de massa fresca (Figura 1A), comprimento de pseudobulbos (Figura 1B), e número final de raízes (Figura 1D), enquanto que o comprimento da maior raiz não foi influenciado por essa condição de luminosidade e nem pelo tempo de imersão (Figura 1C). Nessa condição de luminosidade, os melhores resultados foram observados na ausência de imersão e apresentaram efeitos lineares decrescentes à medida que o tempo imersão aumentou (Figura 1A, B, D).

Os efeitos benéficos da luz vermelha em relação à luz branca sobre a morfogênese das plantas pôde ser registrado até o tempo de imersão de 48 horas. A partir desse tempo a luz vermelha apresentou resultados inferiores à luz branca (Figura 1A, B, D).

O aumento do tempo de imersão das plantas associado à exposição posterior das mesmas à luz vermelha pode ter ativado o mecanismo de ação do fitocromo que regula as mudanças nos fluxos iônicos em nível de membrana lipoproteica, causando alterações na permeabilidade da membrana (MAJEROWICZ e PERES, 2008) interferindo no crescimento das plantas cultivadas sob essa condição de luminosidade.

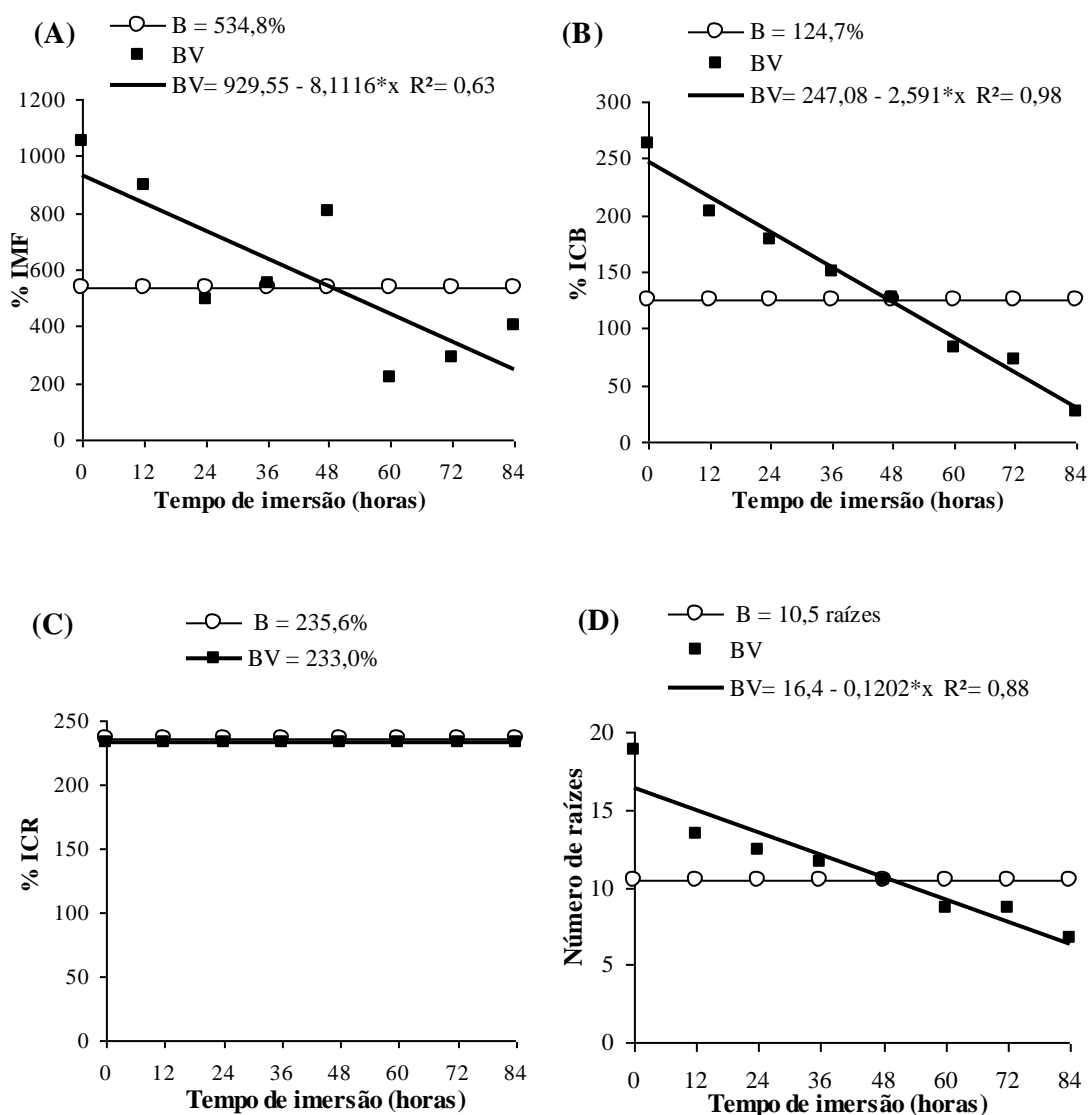


FIGURA 1. Efeito conjunto do tempo de imersão e das condições de luminosidade (B= luz branca; BV= 50 % de luz branca + 50 % de luz vermelha GRO-LUX<sup>®</sup>) sobre: (A) porcentagem de incremento em massa fresca; (B) porcentagem de incremento em número de pseudobulbos; (C) porcentagem de incremento em comprimento da maior raiz e (D) número de raízes de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree. UFGD, Dourados-MS, 2012.

A porcentagem de sobrevivência, e as porcentagens de incrementos no número de folhas, diâmetro e número de pseudobulbos de *D. phalaenopsis* foram influenciadas isoladamente, apenas pelo tempo de imersão ( $p < 0,01$ ) (Figura 2A e B), não respondendo isoladamente às condições de luminosidade ( $p > 0,05$ ).

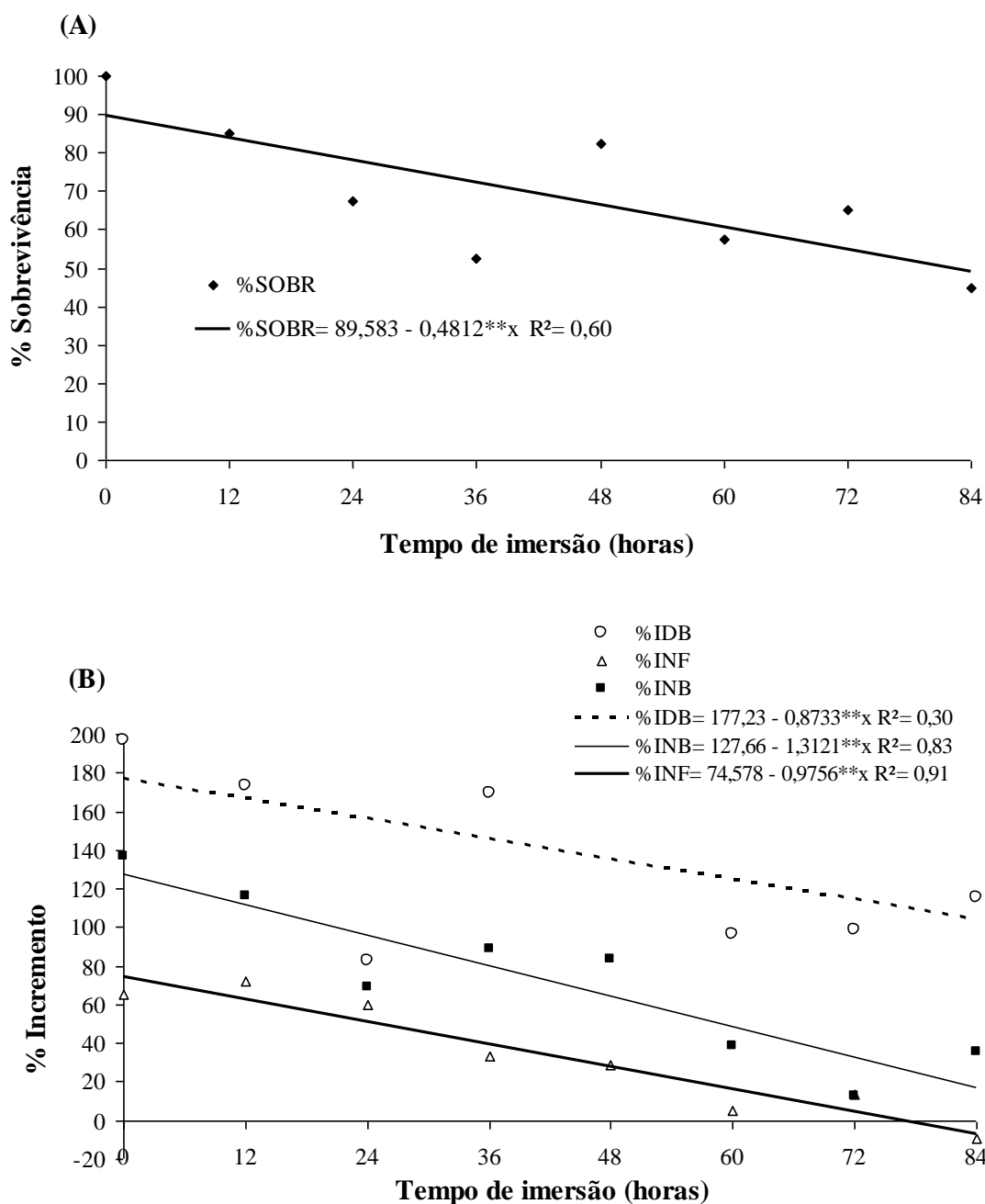


FIGURA 2. Efeito isolado do tempo de imersão de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Sureau, em água destilada sobre: (A) Porcentagem de sobrevivência; (B) porcentagem de incremento no número de folhas (%INF), no diâmetro (%IDB) e no número de pseudobulbos (%INB). UFGD, Dourados-MS, 2012.

Para cada 12 horas de imersão, houve redução de 5,8 % na sobrevivência das plantas. De maneira análoga, foram registradas reduções de 11,8 % no número final de folhas e de 10,5 % e 15,7 % nos incrementos em diâmetro e número de pseudobulbos, respectivamente, com o aumento do período de imersão. Para o número



final de folhas, período de imersão superior a 76 horas propiciou incrementos negativos (Figura 2B).

A imersão em água destilada por até 30 horas, independentemente da condição de luminosidade estudada, possibilitou porcentagem de sobrevivência superior a 75 % (Figura 2A), que é considerada satisfatória para cultivos comerciais. Entretanto, os resultados deste trabalho permitem inferir que o transplante imediato de *D. phalaenopsis* para substrato e sua posterior aclimatização intermediária, sob luz vermelha e branca, são os mais recomendados para a espécie.

#### 4. CONCLUSÃO

1- Recomenda-se a aclimatização intermediária, por 30 dias, em sala de crescimento, sob luz fluorescente branca + luz fluorescente vermelha para plantas de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree.

2- A ausência de imersão em água destilada é benéfica para plantas de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Suree.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BRAINERD, K. E.; FUCHIGAMI, L. H. Acclimatization of aseptically cultured apple plants to low relative humidity. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.106, p.515-518, 1981.

CAMPOSTRINI, E.; OTONI, W. C. Aclimação de plantas: abordagens recentes. **ABCTP/EMBRAPA**. Notícias, n.25, 1996.

COSTA, N. P.; DAMIÃO FILHO, C. F.; COSTA, N. P.; BATISTA, J. L. Semeadura *in vitro* e aclimação de plântulas de caramboleira. **Revista Ciências Agrárias**, Pernambuco, n.47, p. 211-220, 2007.

CYBULARZ-URBAN, T.; HANUS-FAJERSKA, E.; SWIDERSKI, A. Effect of light wavelength on *in vitro* organogenesis of a *Cattleya* hybrid. **Acta Biologica Cracoviensia**, Cracow, v.49, n.1, p.113-118, 2007.

DIÁZ-PÉREZ, J.; SHACKEL, K. A.; SUTTER, G. G. Acclimatization and subsequent gas exchange, water relations, survival and growth of microculture apple plantlets after transplanting them in soil. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.9, p.225-232, 1995.

FARIA, R. T. **Produção de orquídeas em laboratório**. Londrina: Mecenaz, 2012. 124p.

FERREIRA, D. F. Programa de análises estatísticas (*Statistical Analysis Software*) e planejamento de experimentos – SISVAR 5.3. Universidade Federal de Lavras, 2010.

GALDIANO JUNIOR, R. F.; MANTOVANI, C.; PIVETTA, K. F. L.; LEMOS, E. G. M. Crescimento *in vitro* e aclimação de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae) com carvão ativado sob dois espectros luminosos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.5, jan. 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/2012nahead/a13212cr5881.pdf>>. Acessado em: 11 dez. 2012.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Eds.). **Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos de Plantas**, Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPH, 1990. p.99-169.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. 2006. **Material didático de apoio à disciplina de Biotecnologia**. Disponível em: <<http://www.cca.ufsc.br/lfdgv/Apostila.htm>>. Acesso em: 21 nov. 2012.

HAZARIKA, B. N. Acclimatization of tissue-cultured plants. **Current Science**, Stanford, v.85, n.12, p.1704-1712, 2003.

KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. 2.ed. Guaíba: Agropecuária, 2005. 254p.

MAJEROWICZ N.; PERES, L. E. P. Fotomorfogênese em plantas. In: KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2008. 431p.

MATTIUZ, C. F. M.; RODRIGUES, T. J. D.; MATTIUZ, B. Aspectos fisiológicos de orquídeas cortadas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.12, p.21-30. 2006.

MOREIRA, M. A.; CARVALHO, J. G. de; FRÁGUAS, C. B.; PASQUAL, M. Respostas à adubação NPK de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola em fase de aclimatização. **Plant Cell Culture & Micropropagation**. Lavras, v.3, n.1, p. 17-22. 2007.

MOURA, L. C.; TITON, M.; FERNANDES, J. S. C.; SANTANA, R. C.; OLIVEIRA, M. L. R. Micropropagação de sucupira-preta por meio de gemas axilares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, EMBRAPA, v.47, p.691-1698, 2012.

NASCIMENTO, A. C.; PAIVA, R.; ABBADE, L. C.; VARGAS, D. P.; SOARES, F. P. Micropropagação de uvaieira (*Eugenia pyriformis* Cambess): efeitos do BAP e AIB. **Revista Verde**. Mossoró, v.3, n.2, p.20-26, 2008.

OTONI, W. C.; BLACKHALL, N.; D'UTRA VAZ, F. B.; CASALI, V. W. D.; POWER, J. B.; DAVEY, M. R. Somatic hybridization between *Passiflora* species, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. and *P. incarnata* L. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v.46, p.777-785, 1995.

RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 2010. 570p.

ROSA, Y. B. C. J.; ROSA JUNIOR, E. J.; RECH, A. R.; MUNARIN, K. O.; SILVA, H. M.; SOARES, J. S.; MARTINS, A. I. Utilização da “imersão” no aproveitamento de mudas pouco desenvolvidas de Dendróbio borboleta. In: 45º Congresso Brasileiro de Olericultura, Fortaleza. **Horticultura Brasileira**, Brasília, n.23, p.1-4, 2005.

SOUZA, F. R. **Influência da intensidade do tráfego e de sistemas de manejo nas propriedades físicas do solo e nas culturas de soja e girassol**. 2012. 78p. Tese (Doutorado em Agronomia-Produção Vegetal), Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS.

SOUZA SOBRINHO, F.; PEREIRA, A.V.; LÉDO, F.J.S.; OLIVEIRA, J.S.; VARGAS, S.M. Aclimatização de germoplasma de capim-elefante, pós cultivo *in vitro*. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v.31, p.11-15, 2007.

SCHUCK, M. R.; LIPSKI, B.; SILVA, A. L. L. da; CARVALHO, D. C.; BIASI, L. A. Aclimatização de plantas micropropagadas de videira cv. Bordô (*Vitis labrusca* L.) em diferentes substratos. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Gurupi, v.3, p.206-212, 2012.

TANAKA, M.; TAKAMURA, T.; WATANABE, H.; ENDO, M.; YANAGI, T.; OKAMOTO, K. *In vitro* growth of *Cymbidium* plantlets cultured under super bright red and blue light-emitting diodes (LEDs). **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v.73, p.39-44, 1998.

TAVEIRA, J. A. M. Novas tecnologias na aclimatização, formação e manejo de mudas. In: GERALD, L.T.S. **Biofábrica de plantas**: produção industrial de plantas *in vitro*. São Paulo: Antiqua, 2011. 383p.

TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. **Micropropagação de Plantas Ornamentais**. Campinas: Instituto Agronômico. 1998. 72p.

TORRES, A. C.; BARBOSA, N. V. dos R.; WILLADINO, L.; GUERRA, M. G.; FERREIRA, C. F.; PAIVA, S. A. V. Meios e condições de incubação para a cultura de tecidos de plantas: formulações de meios para a cultura de tecidos de plantas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, EMBRAPA. Circular Técnica, n.24, dez. 2001.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; ARAÚJO, A. G.; PIO, L. A. S. Micropropagação da amoreira-preta (*Rubus* spp.) e efeito de substratos na aclimatização de plantas. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.28, n.1, p.47-53, 2006.