

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

***Brassavola tuberculata* HOOK. (ORCHIDACEAE):
CULTIVO *IN VITRO*, ACLIMATIZAÇÃO, POTENCIAL
ORNAMENTAL E REINTRODUÇÃO**

ISABELLA SOUZA RIBEIRO

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2020

***Brassavola tuberculata* HOOK. (ORCHIDACEAE): CULTIVO IN
VITRO, ACLIMATIZAÇÃO, POTENCIAL ORNAMENTAL,
REINTRODUÇÃO**

ISABELLA SOUZA RIBEIRO
Engenheira Agrônoma

Orientador: PROF. DR. JOSÉ CARLOS SORGATO

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
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

R484b Ribeiro, Isabella Souza

Brassavola tuberculata HOOK. (ORCHIDACEAE): CULTIVO *IN VITRO*,
ACLI MATI ZAÇ ÃO, POTENCIAL ORNAMENTAL E REINTRODUÇ ÃO [recurso
eletr ˆnico] / Isabella Souza Ribeiro. -- 2020.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Jos ˆ Carlos Sorgato.

Dissertaç ˆo (Mestrado em Agronomia) -Universidade Federal da Grande Dourados,
2020.

Dispon ˆvel no Reposit ˆrio Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Orchidaceae. 2. Esp ˆcie Nativa. 3. Horticultura Ornamental. 4. Aclimatizaç ˆo. 5.
Paisagismo.

I. Sorgato, Jos ˆ Carlos. II. T ˆtulo.

Ficha catalogr ˆfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a)
autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reproduç ˆo parcial desde que citada a fonte.

***Brassavola tuberculata* HOOK. (ORCHIDACEAE): CULTIVO *IN VITRO*,
ACLI MATI Z A Ç Ã O, POTENCIAL ORNAMENTAL E REINTRODUÇ Ã O**

por

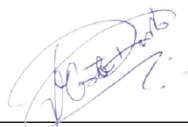
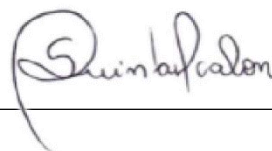
Isabella Souza Ribeiro

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

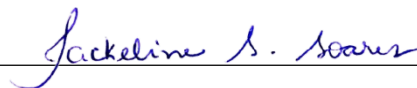
Aprovada em: 19/08/2020



Dr. José Carlos
Sorgato Orientador –
UFGD/FCA



Dra. Jannaina Velasques da Costa Pinto UFSB



AGRADECIMENTOS

A Oxalá, por se fazer presente e mostrar diariamente o meu valor e minha capacidade, pela força e pelo auxílio nas minhas escolhas.

Ao meu orientador Dr. José Carlos Sorgato, quem sempre me passou confiança, sendo inspiração e motivação, assim como a oportunidade de poder compartilhar seu conhecimento, obrigada por tudo.

Ao meu amigo Luan Marlon Ribeiro, cuja companhia, incentivo e ajuda fez essa caminhada ser mais alegre e fascinante quando vista pelos olhos dele.

À técnica de laboratório Dra. Jackeline Schultz Soares, pelo carinho, dedicação e apoio técnico e científico sempre que precisei.

Ao Laboratório de Plantas Ornamentais da Universidade Federal da Grande Dourados pela disponibilidade da estrutura necessária para execução do projeto.

Ao Gehorti, grupo de Ensino, Pesquisa e Extensão em Horticultura Ornamental, pelo apoio, ajuda, companheirismo e muitos cafés divididos.

À 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.

À minha família, meus pais, Neuzely Souza Ribeiro e Marcos Dias Ribeiro, e meus irmãos Murilo Souza Ribeiro e Andrey Souza Ribeiro, por sempre acreditarem em mim e me apoiarem.

A minha companheira Hindyra Marihellym Folador, pelo suporte incondicional, por acreditar em mim e sempre me lembrar o quão capaz eu sou, especialmente quando os momentos foram difíceis. Obrigada, com todo meu coração.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	6
CAPÍTULO I - DIODO EMISSOR DE LUZ NO CULTIVO <i>IN VITRO</i> DE <i>Brassavola tuberculata</i> HOOK.....	10
RESUMO	10
1. INTRODUÇÃO	12
2. MATERIAL E MÉTODOS	13
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4. CONCLUSÃO	22
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
CAPÍTULO II - SUBSTRATOS NO CULTIVO <i>EX VITRO</i> DE <i>Brassavola tuberculata</i> HOOK. ORIUNDA DE SEMEADURA ASSIMBIÓTICA.....	27
RESUMO	27
1. INTRODUÇÃO	29
2. MATERIAL E MÉTODOS	31
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4. CONCLUSÃO	40
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
CAPÍTULO III - <i>Brassavola tuberculata</i> HOOK.: POTENCIAL ORNAMENTAL E REINTRODUÇÃO.....	45
RESUMO	45
1. INTRODUÇÃO	47
2. MATERIAL E MÉTODOS	49
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4. CONCLUSÃO	64
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

***Brassavola tuberculata* HOOK. (ORCHIDACEAE): CULTIVO *IN VITRO*, ACLIMATIZAÇÃO, POTENCIAL ORNAMENTAL, REINTRODUÇÃO**

RESUMO GERAL

No Brasil, a quantidade de espécies nativas comercializadas ainda é pouco representativa, se comparada à diversidade existente, o que conseqüentemente impacta no seu uso em projetos paisagísticos. Buscou-se com este trabalho contribuir com a valorização e preservação da flora nativa, através da inserção de *Brassavola tuberculata* Hook., no paisagismo, por meio de técnicas de cultivo *in vitro*, aclimatização, reintrodução em ambiente natural, e avaliação do potencial ornamental. Foram realizados três experimentos independentes na área de Jardinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados. O primeiro foi para avaliar a influência de cinco fontes de luz no crescimento *in vitro* de *B. tuberculata*: T1- LED 3000 K ($42 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), T2- LED 3000 K ($86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), T3- LED 6500 K ($58 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), T4- LED 6500 K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e T5- lâmpada fluorescente branca 6500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Aos 45 e 90 dias após a semeadura, foram avaliados a porcentagem de germinação e o estabelecimento inicial. Para o segundo experimento, foram usados diferentes substratos para a aclimatização das plântulas, sendo eles: S1) 100% paú de buriti; S2) 100% esfagno; S3) 100% chips de coco; S4) 100% substrato comercial; S5) 50% paú de buriti + 50% esfagno; S6) 50% paú de buriti + 50% substrato comercial; S7) 50% esfagno + 50% chips de coco; S8) 50% esfagno + 50% substrato comercial; S9) 50% chips de coco + 50% substrato comercial e S10) 50% chips de coco + 50% paú de buriti. As características avaliadas foram número de folhas, número de raízes, comprimento da maior raiz, altura de planta e massa fresca, sendo que as avaliações ocorreram no tempo zero, 180 e 365 dias após a aclimatização. Para o terceiro experimento, o potencial ornamental foi avaliado em indivíduos que apresentavam botões florais, totalizando três plantas e cinco flores; para a reintrodução, foram utilizados 20 indivíduos com cerca de 10 cm de altura, fixados com malha sintética de náilon em cinco forófitos de Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.). As plantas foram submetidas a dois tratamentos, ou seja, com e sem 12 g de adubo de liberação controlada (NPK 15-15-15). Foi avaliada a sobrevivência até completar seis meses e ainda uma nova avaliação foi feita aos 360 dias. As plantas também foram avaliadas quanto ao ajuste no forófito por um ano, em relação ao comprimento da folha e diâmetro da folha. Para o experimento I as fontes de luz utilizadas não influenciaram a germinação das sementes de *B. tuberculata*. A utilização do LED 3000 K, com irradiância de 42 e $86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e do LED 6500 K ($58 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) proporcionaram o estabelecimento inicial de *B. tuberculata* em menor período de tempo. Para o experimento II conclui-se que os substratos compostos de paú de buriti em mistura ou não com chips de coco (1:1) são os mais indicados para o desenvolvimento vegetativo de *B. tuberculata* durante a fase de aclimatização. Para o experimento III verificou-se que os aspectos morfológicos de *B. tuberculata* atribuem a espécie potencial ornamental e seu uso em paisagismo e sua reintrodução é recomendada sem a utilização de adubo.

Palavras-chave: Orchidaceae; Espécie nativa; Horticultura Ornamental

ABSTRACT

In Brazil, the number of native species commercialized is still not very representative, when compared to the existing diversity, which consequently impacts on its use in landscape projects. This work sought to contribute to the enhancement and preservation of native flora, through the insertion of *Brassavola tuberculata* Hook., in the landscaping, through *in vitro* cultivation techniques, acclimatization, reintroduction in a natural environment, and evaluation of the ornamental potential. Three independent experiments were carried out in the Gardening area of the Faculty of Agricultural Sciences of the Federal University of Grande Dourados. The first was to assess the influence of five light sources on the *in vitro* growth of *B. tuberculata*: T1- LED 3000 K ($42 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), T2- LED 3000 K ($86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), T3- LED 6500 K ($58 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), T4- LED 6500 K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e T5- white fluorescent lamp 6500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). At 45 and 90 days after sowing, the germination percentage and initial establishment were evaluated. For the second study, different substrates were used to acclimatize the seedlings, namely: S1) 100% buriti paú; S2) 100% sphagnum; S3) 100% coconut chips; S4) 100% commercial substrate; S5) 50% buriti bag + 50% sphagnum; S6) 50% buriti bag + 50% commercial substrate; S7) 50% sphagnum + 50% coconut chips; S8) 50% sphagnum moss + 50% commercial substrate; S9) 50% coconut chips + 50% commercial substrate and S10) 50% coconut chips + 50% buriti sticks. The characteristics evaluated were number of leaves, number of roots, length of the largest root, plant height and fresh weight, and the evaluations took place at time zero, 180 and 365 days after acclimatization. For the third experiment, the ornamental potential was made in three individuals who had flower buds, totaling three plants and five flowers; for reintroduction, 20 individuals of about 10 cm high were used, fixed with synthetic nylon mesh in five phorophytes from Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.). The plants were submitted to two treatments, that is, with and without 12 g of controlled release fertilizer (NPK 15-15-15). Survival until six months was evaluated and a new evaluation was made at 360 days. The plants were also evaluated for adjustment in the phorophyte for one year, in relation to leaf length and leaf diameter. At 360 days after reintroduction, the nylon meshes were removed to evaluate the root system of the plants. For experiment I the light sources used did not influence the germination of *B. tuberculata* seeds. The use of LED 3000 K, with irradiance of 42 and $86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and LED 6500 K ($58 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) provided the initial establishment of *B. tuberculata* in a shorter period of time. For experiment II, we conclude that the substrates composed of paú de buriti mixed or not with coconut chips (1:1) are the most suitable for the vegetative development of *B. tuberculata* during the acclimatization phase. For experiment III it was found that the morphological aspects of *B. tuberculata* attribute the potential ornamental species and its use in landscaping and its reintroduction is recommended without the use of fertilizer.

Keywords: Orchidaceae; Native species; Ornamental Horticulture

INTRODUÇÃO GERAL

A produção comercial de flores e plantas ornamentais pode ser definida como atividade profissional de produção, comercialização e distribuição de flores e plantas cultivadas para fins ornamentais, sendo um dos segmentos mais promissores do agronegócio brasileiro (JUNQUEIRA e PEETZ, 2017). Espécies da família Orchidaceae estão entre as plantas ornamentais mais apreciadas e de grande valor comercial por suas características, tais como: o tamanho da inflorescência, variedade, tamanho, número, coloração e durabilidade das flores, além da indicação para uso na produção de flores de corte, vaso e como folhagem. (PASQUAL et al., 2011; HUNHOFF et al., 2016).

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 e atualmente engloba cerca de aproximadamente 899 gêneros e 27.801 espécies com nomes aceitos, sendo a segunda maior família de plantas com flores (GARAY, 1972; THE PLANT LIST, 2020). No Brasil, Barros et al. (2020), listam 214 gêneros descritos, 2.450 espécies, das quais 1.539 são endêmicas do país.

As orquídeas vêm conquistando posições importantes no mercado de flores nacional, representando a segunda opção nas compras para presentear nas principais datas comemorativas, com previsão de ter movimentado R\$ 8,6 bilhões durante o ano de 2019, 7% a mais que o ano anterior, destacando-se a produção de orquídeas, tanto exóticas quanto nativas da flora brasileira (FARIA et al., 2018; JUNQUEIRA e PEETZ, 2018; ENFLOR, 2019).

O Brasil se destaca por ser centro de origem de muitas espécies de orquídeas e a conscientização sobre o uso e valorização de nativas ganhou visibilidade (MATTIUZ et al., 2006; SOUSA, 2013). O gênero *Brassavola* é encontrado ao longo do continente latino americano e está entre os principais gêneros de orquidáceas do Brasil, constituído por dez espécies (BELLONE, 2006; BARROS et al., 2020). Possui inflorescências com elevado potencial ornamental e rusticidade, sendo um dos gêneros mais ameaçados pelas coletas predatórias. É também de interesse comercial, pois é utilizado na produção de híbridos duplos e triplos com *Cattleya*, *Laelia*, *Sophranitis* e *Epidendrum* (HERING e PUTZKE, 2007; SOARES et al., 2012; SOUSA et al., 2015).

A espécie *Brassavola tuberculata* Hook., é nativa de 20 estados brasileiros, incluindo o Mato Grosso do Sul (BARROS et al., 2020). Recebe nomes populares como

“chuva de prata, cebolinha, rabo de rato e orquídea dama-da-noite”, e apresenta floração abundante e duradoura, com inflorescências contendo de cinco a sete flores, de coloração branca levemente amarelada, labelo largo e extremidade pontiaguda, exalando odor levemente adocicado ao anoitecer (RECH et al., 2010; SOUSA et al., 2015) (Figura 1). É uma planta com hábitos de desenvolvimento epífítico e rupícola, suas folhas são compridas, possuem formato cilíndrico, com uma nervura longitudinal, ápice agudo e coloração verde; as hastes florais são finas de coloração clara e a inflorescência terminal (BELLONE, 2006; PESSOA e ALVES, 2014).



FIGURA 1: Plantas de *Brassavola tuberculata* Hook. e seus aspectos florais e morfológicos. Foto: Rosa, Y. B. C. J. 2005.

Devido ao potencial ornamental de suas flores as orquídeas são muito visadas para o comércio, exploração ilegal, orquidófilos e por colecionadores, sendo retiradas da natureza através de coletas indiscriminadas (MACEDO et al., 2014). Além disso, muitas espécies correm risco de serem extintas pela frequente destruição de seu habitat, que limita e reduz sua distribuição (GALDIANO JÚNIOR et al., 2012; MENGARDA et al., 2017).

De maneira geral as orquídeas se desenvolvem lentamente em todas as suas fases, da germinação das sementes até a fase adulta, necessitando de um longo período para serem cultivadas antes de chegarem aos mercados, o que aumenta os custos de produção (SOUSA, 2013). Então, maneiras de viabilizar uma produção mais rápida, além de suprir

melhor a demanda dos consumidores, também pode reduzir os custos para produzir mudas.

Grande parte das espécies ornamentais cultivadas pelo mundo não são nativas das regiões em que se encontram (HEINDEN e IGANCI, 2009). No Brasil, a quantidade de espécies nativas comercializadas ainda é pouco representativa, se comparada à diversidade existente, o que conseqüentemente impacta seu uso em projetos paisagísticos (CARRION e BRACK, 2012). Salienta-se que as informações quanto a oferta e demanda de plantas ornamentais nativas no mercado são incipientes, tornando esse fator mais um agravante (ZUCCHI et al., 2019).

Reconhecer o potencial da diversidade nativa e aliar com a produção em escala comercial pode ser uma oportunidade inovadora para viveiros e paisagistas, impulsionando a cadeia produtiva da floricultura. Algumas das vantagens de produzir plantas nativas para comercialização incluem a divulgação, valorização e preservação da biodiversidade e diminuição do extrativismo (STUMPF et al., 2015). O uso de nativas no paisagismo pode auxiliar na educação ambiental ao valorizar a identidade paisagística natural e regional, além dos benefícios técnicos, com possibilidade de redução dos custos de manutenção e do uso de insumos químicos devido a adaptação da planta ao seu habitat (HEIDEN et al. 2007; FARIA, 2018).

As pesquisas sobre plantas ornamentais nativas são necessárias, especialmente as que ocorrem em áreas ameaçadas, seja pela urbanização ou devastação do ambiente nativo, pois muito material genético pode ser perdido antes mesmo de ser estudado (LEAL e BIONDI, 2006). Esse fato fortalece, mais uma vez, que o cultivo comercial e o uso de espécies nativas em projetos paisagísticos são importantes para a manutenção e conservação dessas espécies.

No entanto, para a utilização de uma nova planta no paisagismo é preciso o estabelecimento de um conjunto de características ornamentais desejáveis (O'BRIEN, 1996; ZUCCHI et al., 2019). Além do potencial para ornamentação, é necessário que essas espécies nativas se adaptem às mesmas condições ambientais e atendam às expectativas dentro do cenário pretendido (STUMPF et al., 2015).

Para a inserção destas espécies no paisagismo, incluindo as orquídeas, técnicas de multiplicação *in vitro* se configuram como uma ferramenta importante, uma vez que, propiciam menor tempo de cultivo, e em condições adequadas, elevada taxa de sobrevivência. Assim, a germinação assimbiótica, através do cultivo *in vitro*, permite a produção comercial de mudas, com alta qualidade fitossanitária para distribuição em larga

escala, em espaço físico reduzido e curto intervalo de tempo, atuando ainda como uma técnica de preservação de espécies e conservação do material genético (CARDOSO, 2014; RIBEIRO et al., 2019; MENEZES-SÁ et al., 2019).

As sementes de orquídeas são desprovidas de cotilédone e apresentam endospermas extremamente reduzidos, o que compromete a nutrição do embrião durante o processo germinativo. Isso faz com que dependam da associação com fungos micorrízicos específicos para completar seu desenvolvimento (FERREIRA et al., 2010). Tal comportamento torna a germinação natural, a partir de suas sementes, inviável e lenta para atender a demanda comercial dessas espécies (SOARES et al., 2012).

Assim, a micropropagação tem se mostrado uma ferramenta eficiente para a produção comercial de plantas, além da questão preservacionista (HERMANN et al., 2011; SOARES, 2018). Dito isso, a utilização de plantas obtidas através do cultivo *in vitro* também pode ser valorizada através de projetos paisagísticos.

Um dos fatores que requer atenção na produção *indoor* de plantas ornamentais é a qualidade da luz dentro da sala de crescimento, que pode influenciar na germinação, no crescimento e no desenvolvimento do material vegetal (KERBAUY, 2012; MASSARO et al., 2018). Pesquisas sobre o efeito da luz na germinação, crescimento e desenvolvimento durante o cultivo *in vitro* de Orchidaceae vem sendo realizadas frequentemente em gêneros já estabelecidos no mercado como *Oncidium* Lindl. (CAMARGO et al., 2016), *Cattleya* Lindl. (FARINACIO et al., 2018), e *Dendrobium* Lindl. (RIBEIRO et al., 2019). No entanto, não há informações sobre trabalhos científicos realizados para comparar e entender os efeitos de diferentes qualidades luminosas no crescimento e desenvolvimento de plantas de *Brassavola tuberculata* Hook., evidenciando a necessidade de estudos para estabelecer protocolos.

O êxito do cultivo *in vitro* também depende do ajuste da planta a uma condição *ex vitro*, sendo este um fator limitante tanto para produções comerciais quanto para aquelas que visam a reintrodução. Considerando que todo o desenvolvimento inicial acontece em ambiente asséptico e com iluminação controlada, configurando um espaço favorável ao seu crescimento, as plantas cultivadas através dessa técnica precisam ser gradativamente aclimatizadas. Só assim é possível que sejam capazes de suportar as condições do ambiente *ex vitro* antes de serem transferidas para seu local definitivo (CHANDRA et al., 2010; SORGATO et al., 2015; SILVA et al., 2017; MENEZES-SÁ et al., 2019).

Portanto, a fase de aclimatização se apresenta como um dos maiores desafios para o cultivo *in vitro* e como uma das etapas mais difíceis para o estabelecimento de uma

nova planta no ambiente natural, com mudanças em seu metabolismo, de heterotrófico para autotrófico (SILVA et al., 2003; MENEZES-SÁ et al., 2019).

Assim, para que se obtenha sucesso nessa fase é importante a escolha do substrato a ser utilizado. O substrato escolhido deve ter boa capacidade de retenção de água e, ao mesmo tempo, propiciar condições favoráveis para as trocas gasosas entre as raízes e o ambiente, facilitando o desenvolvimento da planta (KÄMPF, 2000; FREITAS et al., 2011). Assim, após o estabelecimento de um protocolo eficaz de aclimatização, é possível reintroduzir as espécies em seus ambientes naturais.

A reintrodução constitui uma ferramenta importante para aumentar o conhecimento da biologia, ecologia ou requisitos de gerenciamento das plantas estudadas (SOARES et al., 2020). Essas informações são necessárias ao utilizar espécies nativas em projetos paisagísticos, pois elas precisam se ajustar ao ambiente que serão inseridas. Para compor espaços harmoniosos deve-se examinar as qualidades físicas e estéticas das plantas, além de procurar uma relação harmônica e unificada destas com os outros elementos da composição, estabelecendo então seu potencial ornamental (LEAL e BIONDI, 2006).

Diante do exposto, buscou-se com este trabalho contribuir com a valorização e preservação da flora nativa, através da inserção de *Brassavola tuberculata* Hook. no paisagismo, por meio de técnicas de cultivo *in vitro*, aclimatização, reintrodução em ambiente natural, e avaliação do potencial ornamental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROS, F. DE; Orchidaceae in Flora do Brasil 2020 (em construção). **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB179>. Acesso em: 22 mai. 2020.
- BELLONE, R. **Orquídeas: Guia del aficionado**. Ediciones Omega, Barcelona. 2006. 544p.
- CAMARGO, S. S. Fitorreguladores e espectros de luz na micropropagação de *Oncidium baueri* Lindl. **Ciência Rural**, v. 45, n. 11, p. 2007-2012, 2015.
- CARDOSO, J. C. Levantamento de espécies da família Orchidaceae em Botucatu: potencial ornamental e cultivo. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 7-13, 2014.
- CARRION, N. A. A.; BRACK, P. Eudicotiledôneas ornamentais dos campos do bioma Pampa no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 18, n. 1, p.23-37, 2012.
- CHANDRA, S.; BANDOPADHYAY, R.; KUMAR, V.; CHANDRA, R. Acclimatization of tissue cultured plantlets: from laboratory to land. **Biotechnology Letters**, v. 32, n. 1, p. 1199-1205, 2010.
- ENFLOR. Mercado brasileiro de flores e plantas ornamentais segue na contramão da crise. In: ENCONTRO NACIONAL DE FLORISTAS, PRODUTORES, ATACADISTAS E EMPRESA DE ACESSÓRIOS; 2019, Holambra, **Release econômico**.
- FARIA, R. T. **Paisagismo: harmonia, ciência e arte**. São Paulo, 2018. 144p.
- FARIA, R. T.; STEGANI, V.; BERTONCELLI, D. J.; ALVES, G. A. C.; ASSIS, A. M. Substrates for the cultivation of epiphytic orchids. **Semina: Ciências Agrárias**. v.39, n. 6, p.2851, 2018.
- FARINACIO, R.; GALDIANO, R. F.; LEMOS, E. G. M. *Cattleya* orchids seedlings *in vitro* performance under artificial and natural light. **Acta Horticulturae**. v.1224, p.45-50, 2018.
- FERREIRA, A. W. C.; LIMA, M. I. S.; FARIA, R. T.; RIBEIRO, J. P. N.; CASAL, C. A. Propagação *in vitro* de *Baptistonia pubes* (Lindl.) Chiron & V.P. Castro (*Oncidium pubes* Lindl.) (Orchidaceae). **Acta Botânica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 636-639, 2010.
- FREITAS, S. J.; CARVALHO, A. J. C.; BERILLI, S. S.; SANTOS, P. C.; MARINHO, C. S. Substratos e Osmocote® na nutrição e desenvolvimento de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Vitória. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 672-679, 2011.

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**, v. 42, n. 5, p. 801-807, 2012.

GARAY, L. A. On the origin of the Orchidaceae II. **Journal of the Arnold Arboretum**, Boston, v. 53, n. 1, p. 202-215, 1972.

HEIDEN, G.; STUMPF, E.R.T.; BARBIERI, R.L.; GROLLI, P.R. Uso de plantas subarbustivas e herbáceas nativas do Rio Grande do Sul como alternativa a ornamentais exóticas. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 1, p. 850-853, 2007.

HERING, M; PUTZKE, M. T. L. *Cattleya*, *Brassavola* and *Sophranitis* (Orchidaceae) distribution and habitat characterization in Estrela Municipality, southern Brazil. **Caderno de Pesquisa**, v. 19, p.24-28, 2007.

HERMANN, M. H.; FREITAS, E. M.; PÉRICO, E. Cultivo *in vitro* de plântulas de orquídea em meio de cultura alternativo. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 17, n. 1-4, p.162-166, 2011.

HUNHOFF, V. L.; SILVA, C. A.; LAGE, L. A.; KRAUSE, W.; PALÚ, E. G. Biologia, morfologia floral e potencial ornamental de *Cyrtopodium saintlegerianum* (Orchidaceae). **Revista AgroAmbiente**, v. 10, n. 4, p.358– 363, 2016.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M.S. Brazilian consumption of flowers and ornamental plants: habits, practices and trends. **Ornamental Horticulture**, v. 23, n. 2, p.178-184, 2017.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M.S. Sustainability in Brazilian floriculture: introductory notes to a systemic approach. **Ornamental Horticulture**, v. 24, n. 2, p. 155-162, 2018.

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

KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2012. 478 p.

LEAL, L.; BIONDI, D. Potencial ornamental de espécies nativas. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, v. 4, n. 8, p. 1-16, 2006.

MACEDO, M. C.; ROSA, D. B. C. J.; SOARES, J. S.; TATARA, M. B.; HOFMMANN, N. T. K.; ROSA, Y. B. C. J. Armazenamento de sementes e aclimatização de *Brassavola tuberculata* Hook. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 2883-2894, 2014.

MASSARO, R.; FADIN, D. A.; DE MORAES, C. P.; VIEIRA, A. S.; MARTELINE, M. A. J. I. S. B. Light quality *in vitro* growth and acclimatization of two varieties of *Phalaenopsis amabilis* alba Blume (Orchidaceae). **Iheringia**. v. 73, n. 2, p. 208-215. 2018.

MATTIUZ, C. F. M.; RODRIGUES, T. de J. D.; MATTIUZ, B. Aspectos fisiológicos de orquídeas cortadas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 12, n. 1, p. 21-30, 2006.

MENEZES, T. S. A.; BLANK, M. DE F. A.; COSTA, A. S. DA; FEITOSA-ALCANTARA, R. B.; BLANK, A. F. e LUZ, J. M. Q. *In vitro* conservation and acclimatization of *Epidendroideae* (Orchidaceae) from Sergipe, Brazil. **Bioscience Journal**, v. 35, n. 2, p. 356-366, 2018.

MENGARDA, L. H. G.; COLA, G. P. A.; DE OLIVEIRA, S. C. & DE FREITAS, A. R. Multiplication, rooting *in vitro*, and acclimatization of *Brassavola tuberculata* Hook. (Orchidaceae), an orchid endemic to the Brazilian Atlantic Rainforest. **Bioscience Journal**, v. 33, n. 3, p. 730-738, 2017.

O'BRIEN, B.C. Xeriscaping: Sources of new native ornamental plants. In: JANICK, J. **Progress in new crops**. Arlington: ASHS, 1996. p.536-539.

PASQUAL, M.; SOARES, J. D. R.; RODRIGUES, F. A.; ARAUJO, A. G.; SANTOS, R. R. Influência da qualidade de luz e silício no crescimento *in vitro* de orquídeas nativas e híbridas. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 324-329, 2011.

PESSOA, E.; ALVES, M. Orchidaceae em afloramentos rochosos do estado de Pernambuco, Brasil. **Rodriguésia**, v. 65, n. 3, p. 717-734, Sept. 2014.

RECH, A. R.; ROSA, Y. B. C. J.; MANENTEBALESTIERI, F. C. L. Aspects of the reproductive biology of *Brassavola cebolleta* (Orchidaceae). **Acta Scientiarum** v. 32, n. 4, p. 335-341, 2010.

RIBEIRO, L. M.; SORGATO, J. C.; SCALON, S. P. Q.; SOARES, J. S.; RIBEIRO, I. S. Influência da luz, ventilação natural e tamanho do frasco no crescimento e desenvolvimento de denphal (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias (Agrária)**. v. 14, n. 3, 2019.

SILVA, A. B.; PASQUAL, M.; MACIEL, A. L. R.; DUTRA, L. F. BAP e substratos na aclimatização de plântulas de glioxínia (*Sonningia speciosa* Lood. Hiern.) proveniente de cultura de tecidos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 2, p. 255-260, 2003.

SILVA, J. A. T.; SHARMA, M.; HOSSAIN M.; DOBRÁNSZKI, J.; CARDOSO, J. C.; ZENG, S. J. Acclimatization of *in vitro*-derived *Dendrobium*. **Horticulture Plant**. v. 3, n. 3, p. 110–124, 2017.

SOARES, J. S.; ROSA, Y. B. C. J.; MACEDO, M. C.; SORGATO, J. C.; ROSA, D. B. C. J.; ROSA, C. B. C. J. Cultivo *in vitro* de *Brassavola tuberculata* (Orchidaceae) em meio de cultura alternativo suplementado com diferentes concentrações de açúcar e carvão ativado. **Magistra**, v. 24, n. 3, p. 226-233, 2012.

SOARES, J. S. **Técnicas de cultivo *in vitro* como alternativa para a conservação de *Schomburgkia crispa* Lindl. (Orchidaceae) e sua reintrodução em ambiente natural**. 2018. 101p. Tese de Doutorado em Recursos Naturais – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados – MS.

SOARES, J. S.; SANTIAGO E. F.; SORGATO, J. C. Conservation of *Schomburgkia crispa* Lindl. (Orchidaceae) by reintroduction into a fragment of the Brazilian Cerrado. **Journal for Nature Conservation**. v. 53, p. 125754, 2020.

SORGATO, J. C; SOARES, J. S; ROSA, D. B. C. J.; LEME, C. S. R. L.; PEREIRA, S. T. S. e REZENDE, L. S. de R. Imersão em solução nutritiva e ácido giberélico promovem a aclimatização intermediária de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Sure. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 13, n. 3, p. 176-180, 2015.

SOUSA, G. G. **Germinação e crescimento *in vitro* de *Brassavola tuberculata* Hook. (Orchidaceae)**. 2013. 91f. Tese de Doutorado em Produção Vegetal – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados -MS.

SOUSA, G. G.; ROSA, Y. B. C. J.; MACEDO, M. C.; SOARES, J. S. Aclimatização de *Brassavola tuberculata* com a utilização de ANA em diferentes substratos. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 2, 2015.

STUMPF, E. R. T.; SILVA, P. S.; ROMAGNOLI, I. D.; FISCHER, S. Z.; MARIOT, M. P. Espécies nativas que podem substituir as exóticas no paisagismo. **Ornamental Horticulture**, v.21, n.2, p.165-172, 2015.

THE PLANT LIST. Version 1.1. **Publicado na internet**; Disponível em: <http://www.theplantlist.org/>. Acesso em 16 abr. 2020.

ZUCCHI, M. R. Ornamental and landscape potential of a bromeliad native to the Cerrado. **Ornamental Horticulture**, v. 25, n. 4, p. 425-433, 2019.

CAPÍTULO I - DIODO EMISSOR DE LUZ NO CULTIVO *IN VITRO* DE *Brassavola tuberculata* HOOK.

RESUMO

O trabalho foi realizado com objetivo de avaliar a influência de fontes de luz na germinação e desenvolvimento inicial *in vitro* de *Brassavola tuberculata* Hook. Para o início do experimento foi inoculado 1000 µL, de uma suspensão de sementes, em frascos de cultivo contendo meio de cultura de Murashige & Skoog na metade da concentração de sais. Na sequência, os frascos foram acondicionados em sala de crescimento com temperatura e fotoperíodo controlados, sendo dispostos sob cinco condições de luz: T1- LED 3000 K ($42 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), T2- LED 3000 K ($86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), T3- LED 6500 K ($58 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), T4- LED 6500 K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e T5- lâmpada fluorescente branca 6500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), com oito frascos por tratamento, sendo realizado em duplicata, totalizando 16 repetições por tratamento. Aos 45 e 90 dias após a semeadura, foram avaliados a porcentagem de germinação e o estabelecimento inicial. Não houve efeito significativo dos tratamentos utilizados para a porcentagem de germinação (98%). Na avaliação do estabelecimento inicial, aos 45 dias, de maneira geral, a maioria dos propágulos encontravam-se em estágio de desenvolvimento 2 (80,10%). Não foi verificado a formação de plântulas em estágio 4. Aos 90 dias, a maior porcentagem de plântulas em estágio 4 foi observada sob T1, embora sem diferença significativa de T2 e T3, essas condições de luz aceleraram o estabelecimento inicial dessa orquídea. As fontes de luz utilizadas não influenciaram a germinação das sementes de *Brassavola tuberculata* Hook. A utilização do LED 3000 K, com irradiância de 42 e 86 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e do LED 6500 K ($58 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) proporcionaram o estabelecimento inicial de *B. tuberculata* em menor período de tempo.

Palavras-chave: Fonte de Luz, Espécie Nativa, Orchidaceae

ABSTRACT

The work was carried out with the objective of evaluating the influence of light sources on the germination and initial development in vitro of *Brassavola tuberculata* Hook. For the beginning of the experiment, 1000 μL of a seed suspension was inoculated in culture flasks containing Murashige & Skoog culture medium at half the concentration of salts. Then, the vials were placed in a growth room with controlled temperature and photoperiod, being placed under five light conditions: T1- LED 3000 K ($42 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), T2-LED 3000 K ($86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), T3- LED 6500 K ($58 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), T4- LED 6500 K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and T5- 6500K white fluorescent lamp ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), with eight bottles per treatment, performed in duplicate, totaling 16 repetitions per treatment. At 45 and 90 days after sowing, the germination percentage and initial establishment were evaluated. There was no significant effect of the treatments used for the germination percentage (98%). In the evaluation of the initial establishment, at 45 days, in general, most propagules were in stage of development 2 (80.10%). The formation of seedlings in stage 4 was not verified. At 90 days, the highest percentage of seedlings in stage 4 was observed under T1, although without significant difference from T2 and T3, these light conditions accelerated the initial establishment of this orchid. The light sources used did not influence the germination of *Brassavola tuberculata* Hook seeds. The use of LED 3000 K, with irradiance of 42 and $86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and LED 6500 K ($58 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) provided the initial establishment of *B. tuberculata* in a shorter period of time.

Keywords: Light Source; Native species; Orchidaceae

1. INTRODUÇÃO

Orchidaceae é composta por diversas espécies e híbridos, sendo registradas no mercado 2.345 cultivares, oriundas de cruzamentos realizados por produtores (JUNQUEIRA e PEETZ, 2017). O gênero *Brassavola* é utilizado na produção de híbridos duplos e triplos com *Cattleya*, *Laelia*, *Sophronitis* e *Epidendrum*, uma vez que, possui inflorescências com elevado potencial ornamental e rusticidade, sendo um dos gêneros mais ameaçados pelas coletas predatórias (HERING e PUTZKE, 2007; SOARES et al., 2012; SOUSA et al., 2015; ZAHARA et al., 2017).

Um dos obstáculos para produção de plantas dessa família botânica é a propagação por via seminífera. As sementes de orquídeas são desprovidas de cotilédone e apresentam pouco ou nenhum endosperma, logo o embrião não é nutrido de maneira eficiente durante o processo germinativo (FERREIRA et al., 2010). Por meio do cultivo *in vitro*, sementes oriundas de plantas-matrizes adultas vivendo em ambiente natural ou em coleções vivas são utilizadas como fonte de propágulos, sendo capazes de gerar indivíduos geneticamente distintos (SUZUKI et al., 2010; RODRIGUES et al., 2015).

Assim como em diversas espécies da Orchidaceae, *B. tuberculata* possui sementes de tamanho reduzido e, em ambiente natural se associam simbioticamente com fungos micorrízicos, que oferecem nutrientes para a germinação ocorrer, entretanto essa associação não é suficiente para garantir elevadas taxas de germinação, que ficam entre 3% a 5% na natureza (RASMUSSEN, 2002; MENGARDA et al., 2017). Portanto, o cultivo *in vitro* é uma ferramenta que viabiliza a conservação das espécies, a propagação comercial (FARIA et al., 2012; CARDOSO, 2014; TEIXEIRA da SILVA et al., 2017) e, posteriormente, sua inserção em projetos paisagísticos.

A possibilidade de produzir plantas em grandes quantidades, permitida por esse tipo cultivo, pode garantir a perpetuação das espécies, evitando sua vulnerabilidade e possível extinção (FAJARDO et al., 2017; YANG et al., 2017; GALE et al., 2018; SEATON et al., 2018). Ainda assim, estudos sobre formas de propagação são necessários, para que seu material genético seja preservado e possam ser usados por programas de reintrodução e comercialização (RIBEIRO et al., 2019; SOARES et al., 2020).

As técnicas de cultivo *in vitro* são amplamente difundidas e comprovadas quanto a melhoria da taxa de germinação de várias espécies de orquídeas, assim como na multiplicação dos indivíduos, além de produzir plantas com excelente qualidade fitossanitária (SUZUKI et al., 2009; MENGARDA et al., 2017; YANG et al., 2017).

Mesmo no cultivo *indoor* diversos fatores abióticos podem influenciar na germinação, crescimento e desenvolvimento do material vegetal. Dentre estes, destaca-se as condições de luz utilizada para o cultivo (MASSARO et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019).

A luz é responsável por participar de vários processos metabólicos das plantas, sendo fundamental para a fotossíntese e fotomorfogênese (SORGATO et al., 2015; HANUS-FAJERSKA e WOJCIECHOWSKA, 2017). Assim, alguns estudos têm utilizado condições de luz como forma de otimizar a propagação assimbiótica de Orchidaceae durante o cultivo *in vitro*. Teixeira da Silva et al., (2015) em uma revisão de trabalhos sobre propagação assimbiótica do gênero *Dendrobium* relatam que a germinação é alcançada com o uso de luz branca fluorescente em 30,77% dos trabalhos analisados. Já Massaro et al., (2018) informam que a resposta de duas variedades de *Phalaenopsis amabilis alba* Blume às qualidades luminosas foram distintas entre as duas e Ribeiro et al., (2019) relatam que plantas de denphal (*Dendrobium bigibbum* Lindl.) cultivadas sob luz branca (6.500K) apresentaram maior altura de planta.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência das fontes de luz na germinação e desenvolvimento inicial *in vitro* de *Brassavola tuberculata* Hook.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultivo *in vitro* de Flores e Plantas Ornamentais da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), durante o período de setembro a dezembro de 2019.

O material utilizado para estudo foi sementes de *Brassavola tuberculata* Hook., provenientes de frutos coletados do matrizeiro do orquidário da FCA-UFGD na cidade de Dourados-MS. Essas matrizes são cultivadas em viveiro coberto pela sobreposição de duas telas de sombreamento de 50%, propiciando irradiância de $235 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sob condições médias de temperatura e umidade relativa de $22,6 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ e $73,9 \pm 10\%$, respectivamente, com irrigação realizada por microaspersores tipo bailarina, posicionados a um metro acima das plantas, totalizando uma lâmina de água de 1 mm dia^{-1} .

Após a colheita os frutos foram destacados e levados para o laboratório de cultivo *in vitro*, onde foram desinfestados com solução de álcool etílico 70% e abertos com

auxílio de bisturi. As sementes então foram retiradas das cápsulas e homogeneizadas. Na sequência foi pesada uma amostra de 50 mg, colocada em tubos de ensaio onde recebeu 3 mL de solução aquosa de cloreto de trifenil tetrazólio 0,5%, para avaliação quanto à viabilidade, segundo metodologia de Soares et al. (2014).

As suspensões de sementes foram acondicionadas em ambiente desprovido de luz e $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$. Após 24 horas as suspensões de tetrazólio foram acrescidas de 7 mL de água destilada e agitadas, sendo pipetado 1 mL para identificação e contagem de sementes viáveis em câmara de Peters com o auxílio de lupa. Foram realizadas cinco leituras, sendo posteriormente calculada a média entre elas. O teste identificou 396 sementes viáveis por miligrama de sementes, representando viabilidade de 95%. Após essa confirmação procedeu-se a semeadura *in vitro*.

Para este procedimento foi utilizada outra amostra de 50 mg de sementes que foi desinfestada por cinco minutos em uma solução composta por 15 mL de hipoclorito de sódio 0,8% e 10 mL de água destilada estéril. Após este período, a suspensão de sementes foi diluída para 50 mL e em seguida recebeu tríplice lavagem (40 mL por lavagem) com água destilada estéril, sendo a água descartada após cada lavagem. Na sequência, o volume da suspensão foi completado para 50 mL com água destilada esterilizada em autoclave ($121\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 1,1 atm de pressão por 20 minutos) para a semeadura *in vitro*, inoculando-se 1000 μL da suspensão de sementes por frasco de cultivo (SORGATO et al., 2020a). Foram utilizados 25 mL do meio de cultura de Murashige & Skoog (1962), na metade da concentração de sais ($\text{MS } \frac{1}{2}$), vertidos em frascos com capacidade de 50 mL.

Posteriormente, os frascos com as sementes inoculadas foram vedados com tampa de polipropileno branca e acondicionados em sala de crescimento com temperatura e fotoperíodo controlados ($25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$; 16 h/8 h), sendo dispostos sob cinco condições de luz: T1- LED 3000 K ($42\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$), T2- LED 3000 K ($86\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$), T3- LED 6500 K ($58\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$), T4- LED 6500 K ($108\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$) e T5- lâmpada fluorescente branca 6500K ($23\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$) (Figura 1), com oito frascos por tratamento, sendo realizado em duplicata, totalizando 16 repetições por tratamento.

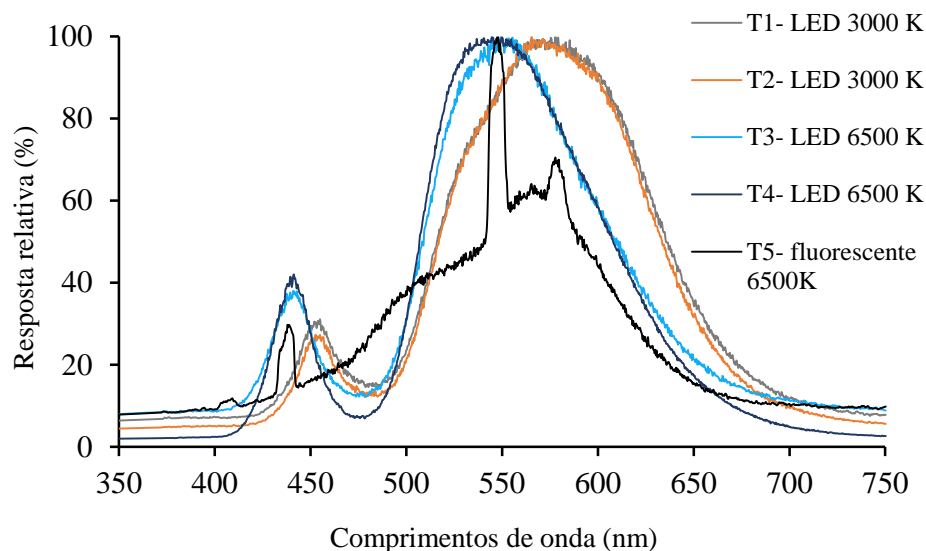


FIGURA 1. Distribuição espectral de energia relacionada aos LEDs e à lâmpada fluorescente. UFGD, Dourados-MS, 2020.

Com auxílio de microscópio estereoscópico binocular o material vegetal foi avaliado aos 45 e 90 dias após a semeadura. Para cada período de avaliação foram utilizados oito frascos de cada tratamento. Tanto aos 45 quando aos 90 dias foram contados o número de sementes não germinadas (NS) e o número de propágulos clorofilados (PC). A porcentagem de germinação (%G) foi calculada pela seguinte expressão: $\%G = [PC / (NS + PC)] \times 100$. As avaliações de crescimento e estabelecimento inicial, foram realizadas seguindo metodologia descrita por Suzuki et al. (2009), sendo consideradas as seguintes classes morfológicas: Estádio 1= protocormo intumescido clorofilado; Estádio 2= plântula com formação da primeira folha; Estádio 3= plântula com duas folhas; Estádio 4= plântula com folhas e uma ou mais raízes (Figura 2). Também foi contabilizado o número de propágulos não clorofilados (PNC). Após a contagem, os tratamentos foram fotografados com câmera acoplada ao microscópio estereoscópico, com auxílio do programa computacional AxionVision versão 3.1 (Zeiss®).

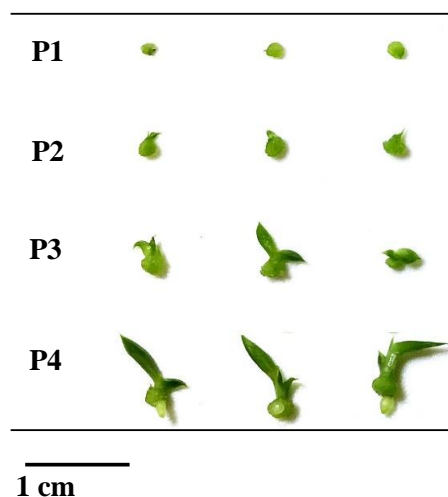


FIGURA 2. Estádios de desenvolvimento inicial de *Brassavola tuberculata* Hook. UFGD, Dourados-MS, 2020. P1= protocormo intumescido clorofilado; P2= plântula com formação da primeira folha; P3= plântula com duas folhas; P4= plântula com folhas e uma ou mais raízes.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com oito repetições e cinco tratamentos (cinco condições de luz), em duplicata. Os resultados foram transformados para $\sqrt{(x+1)}$, para diminuição do coeficiente de variação e, a seguir, submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey até 5% de probabilidade com auxílio do programa SISVAR (Programa de Análises Estatísticas v.5.3. Universidade Federal de Lavras, MG).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

45 dias

Não houve efeito significativo ($p > 0,05$) dos tratamentos utilizados para a porcentagem de germinação, que apresentou média geral de 98%. Também não foi verificada significância para porcentagem de protocormos em estágio 1 (%P1), porcentagem de plântulas em estágio de desenvolvimento 2 (%P2) e porcentagem de propágulos clorofilados (%PC), com médias de 16,09; 80,10 e 91,57%, respectivamente. Efeito significativo ($p < 0,05$) dos tratamentos foi observado para as variáveis porcentagem de plântulas em estágio de desenvolvimento 3 (%P3) e propágulos não clorofilados (%PNC) de *Brassavola tuberculata* (Quadro 1).

QUADRO 1. Resumo da análise de variância de porcentagem de germinação (%G), protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), plântulas em estágio 3 (%P3), propágulos clorofilados (%PC) e propágulos não clorofilados (%PNC), em função das diferentes condições de luz após 45 dias de cultivo *in vitro*. UFGD, Dourados-MS, 2020.

Fator de Variação	GL	Quadrado Médio					
		%G	%P1	%P2	%P3	%PC	%PNC
Trat	4	5,36 ^{ns}	340,80 ^{ns}	322,33 ^{ns}	265,91*	195,84 ^{ns}	195,84*
Erro	28	2,39	118,13	267,04	1,96	90,40	13,54
Total	39	102,45	5573,93	10658,03	1137,40	3910,81	1266,47
Média Geral		98,00	16,09	80,10	3,80	91,57	8,42
C.V. (%)		0,79	26,2	12,55	15,43	5,91	18,83

*: significativo; ^{ns}: não significativo, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A maior %P3 foi verificada no tratamento T1- LED 3000 K ($42 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), com média de 13,74% de plântulas nesse estágio de desenvolvimento. Quanto à mortalidade dos propágulos, o maior valor de %PNC foi encontrado no T4- LED 6500 K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) com 16,29%. Para as duas variáveis os tratamentos diferiram dos demais (Quadro 2).

QUADRO 2. Porcentagens de germinação (%G), protocormos em estágio um (%P1) e plântulas em estágio dois (%P2), plântulas em estágio três (%P3), propágulos clorofilados (%PC) e propágulos não clorofilados (%PNC) de *Brassavola tuberculata* Hook. em função das diferentes condições de luz após 45 dias de cultivo *in vitro*. UFGD, Dourados-MS, 2020.

Tratamento	%G	%P1	%P2	%P3	%PC	%PNC
T1	97,93 a	11,37 a	74,87 a	13,74 a	90,18 a	9,81 b
T2	97,28 a	13,30 a	82,72 a	3,97 b	96,12 a	3,87 c
T3	97,51 a	22,76 a	76,96 a	0,27 c	95,00 a	4,99 bc
T4	97,85 a	23,43 a	75,85 a	0,71 c	83,70 a	16,29 a
T5	99,38 a	9,61 a	90,05 a	0,33 c	92,83 a	7,17 bc
Média Geral	98,00	16,09	80,10	3,80	91,57	8,42
C.V. (%)	0,79	26,2	12,55	15,43	5,91	18,83

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). T1- LED 3000 K ($42 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); T2- LED 3000 K ($86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); T3- LED 6500 K ($58 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); T4- LED 6500 K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e T5- fluorescente 6500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Aos 45 dias, de maneira geral, a maior porcentagem de germinação foi verificada com a utilização do T5, não diferindo significativamente das demais fontes de luz. A luz é um fator importante no crescimento e desenvolvimento de orquídeas cultivadas *in vitro* (GUPTA e JATOTHU, 2013; HANUS-FAJERSKA e WOJCIECHOWSKA, 2017), porém os resultados deste trabalho sugerem que as sementes de *B. tuberculata* apresentam

elevada germinação independente da condição de luz testada, uma vez que a média geral foi de 98,00% (Quadro 2).

Resultados semelhantes foram observados para espécies dos gêneros *Dendrobium* (SORGATO et al. 2020a), *Schomburgkia crispa* Lindl (SORGATO et al. 2020b; SOARES, 2018), *Bletilla ochracea* Schltr. (GODO et al., 2011) as quais apresentaram germinação superior a 50, 94 e 69% respectivamente germinando inclusive na ausência de luz.

Na avaliação do estabelecimento inicial foi constatado que, aos 45 dias, a maioria dos propágulos encontravam-se em P2 (com média geral de 80,10%). A maior formação de plântulas em estágio P3 ocorreu quando estas foram cultivadas sob T1 (13,74%). Dessa forma, os resultados permitem inferir que o uso de lâmpada LED 3000 K ($42 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em salas de crescimento proporcionou melhores condições para o estabelecimento inicial de plântulas de *B. tuberculata* em um menor espaço de tempo (Figura 3).

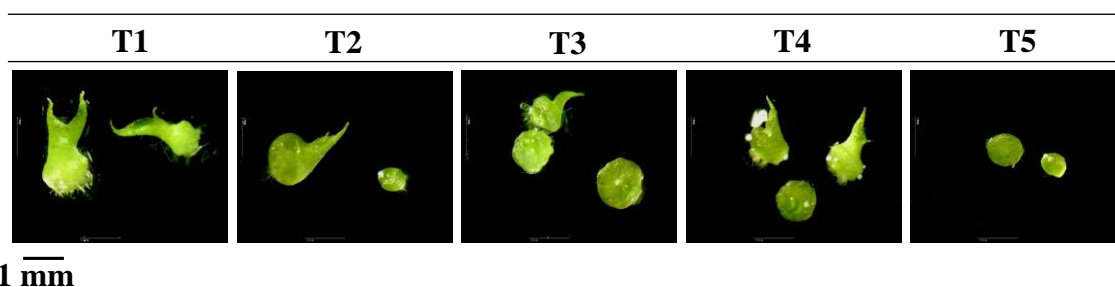


FIGURA 3. Propágulos de *Brassavola tuberculata* Hook. aos 45 dias após a semeadura em função das condições de luz. UFGD, Dourados-MS, 2020. T1- LED 3000 K ($42 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); T2- LED 3000 K ($86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); T3- LED 6500 K ($58 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); T4- LED 6500 K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e T5- fluorescente 6500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

A maior mortalidade dos propágulos foi verificada quando estes foram cultivados sob T4. Esses resultados podem evidenciar que houve uma exposição prolongada à elevada irradiância ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), o que, em conjunto com o comprimento de onda emitido pela luz branca (6500 K) pode ter resultado na fotodestruição dos pigmentos fotossintéticos, uma vez que a descoloração desses é dependente do oxigênio e da luz, cujo fenômeno é denominado de fotooxidação, podendo levar à morte da célula ou do organismo (ARAÚJO e DEMINICIS, 2009).

90 dias

Após os 90 dias de cultivo *in vitro*, houve efeito significativo ($p < 0,05$) para todas as variáveis analisadas apresentando as seguintes médias: %P1 = 3,48; %P2 = 5,52; %P3 = 41,93; %P4 = 48,99; %PC = 96,73; %PNC = 3,26 (Quadro 3).

QUADRO 3. Resumo da análise de variância de protocormos em estágio 1 (%P1), plântulas em estágio 2 (%P2), plântulas em estágio 3 (%P3), plântulas em estágio 4 (%P4), propágulos clorofilados (%PC) e propágulos não clorofilados (%PNC), em função das diferentes condições de luz após 90 dias de cultivo *in vitro*. UFGD, Dourados-MS, 2020.

Fator de Variação	GL	Quadrado Médio					
		%P1	%P2	%P3	%P4	%PC	%PNC
Trat	4	32,53*	16,87*	1463,51*	1900,10*	30,15*	30,15*
Erro	28	1,53	2,23	246,24	265,97	12,55	1,60
Total	39	183,02	141,70	13764,53	16336,75	540,71	169,06
Média Geral		3,48	5,58	41,93	48,99	96,73	3,26
C.V. (%)		15,78	12,11	20,01	18,80	1,85	16,71

*: significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para %P1, o tratamento T4 apresentou o maior valor (6,39%). Para a %P2, os maiores valores foram verificados no tratamento T5, sem diferença significativa para os tratamentos T3 e T4, apresentando médias de 7,46; 6,45 e 5,68%, respectivamente. Em relação a %P3, o tratamento T5 apresentou o maior valor, com 59,70%, embora sem diferença significativa do T4 (52,53%) (Figura 4).

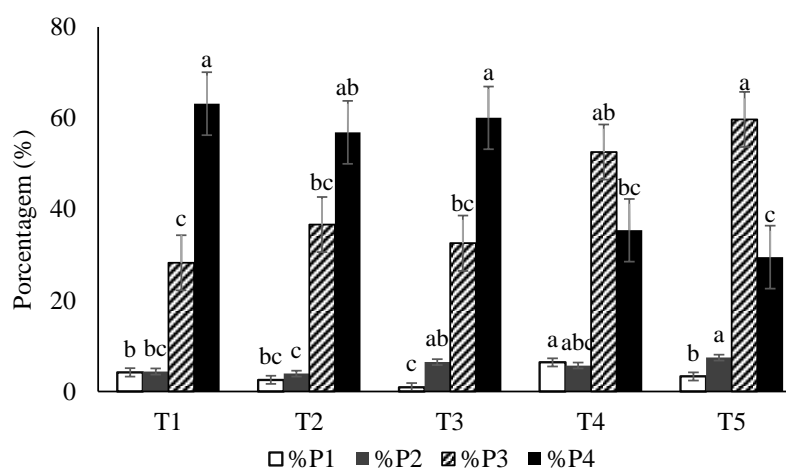


FIGURA 4. Protocormos em estágio um (%P1), plântulas em estágio dois (%P2), plântulas em estágio três (%P3) e plântulas em estágio quatro (%P4) de *Brassavola tuberculata* Hook. em diferentes condições de luz aos 90 dias de cultivo *in vitro*. UFGD, Dourados-MS, 2020. T1- LED 3000 K ($42 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); T2- LED 3000 K ($86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); T3- LED 6500 K ($58 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); T4- LED 6500 K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e

T5- fluorescente 6500 K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Barras seguidas da mesma letra, não diferem pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

A maior %P4 foi observada em T1 (63,15%), sem diferença significativa de T2 e T3 com 56,88% e 60,05%, respectivamente (Figura 4). As condições de LED 3000 K T1 e T3 aceleraram o estabelecimento inicial de propágulos de *B. tuberculata*. A utilização do LED 3.000 K (T1 = 63,15%) quando comparada com a lâmpada fluorescente 6.500 K (T5 = 29,50%) demonstrou 36,65% de aumento de plântulas neste estágio de desenvolvimento. A diferença entre os estádios de desenvolvimento das plântulas, aos 90 dias de cultivo, pode ser observada na Figura 5.

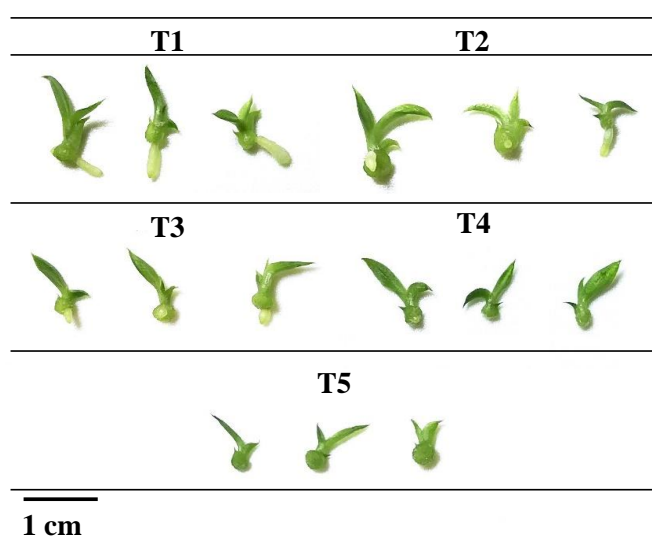


Figura 5. Plântulas de *Brassavola tuberculata* Hook. aos 90 dias após a semeadura em função das condições de luz. T1- LED 3000 K ($42 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); T2- LED 3000 K ($86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); T3- LED 6500 K ($58 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); T4- LED 6500 K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e T5- fluorescente 6500K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). UFGD, Dourados-MS, 2020.

Ainda em relação às plântulas em estágio 4, a condição de luz fluorescente 6500 K (T5) propiciou os menores valores, mesmo sendo esta a condição de luz com irradiância mais próxima do ambiente natural. As orquídeas, em condições de sub-bosque recebem até $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (SOARES et al., 2020), porém essa espécie em condição de cultivo *in vitro* apresentou maior desenvolvimento inicial quando cultivadas em fontes de luz com irradiâncias de $42 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a $86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Quanto às fontes de luz utilizadas, o uso de lâmpada LED têm diversas vantagens em relação à fluorescente, tais como: proporcionam menores variações morfológicas e fisiológicas nos embriões vegetais, longo período de vida útil, alta eficiência no processo de geração de luz e baixa emissão de calor, demandando menos energia na sala de

crescimento (GUPTA e JATOTHU, 2013; HANUS-FAJERSKA e WOJCIECHOWSKA, 2017). Esses resultados demonstram que, além da possibilidade de redução de custos na propagação, essa fonte de luz ainda acelerou o estabelecimento *in vitro* de *B. tuberculata*.

Embora o comprimento de onda do LED 3000 K tenha pico sinuoso em $\cong 580\text{nm}$ (Figura 1), o que proporciona maior quantidade de energia na região do vermelho e, do ponto de vista fisiológico, contribua de maneira mais efetiva para a excitação dos pigmentos fotossintéticos (TAIZ et al., 2017); o LED 6500 K até a irradiância de $58 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ também contribuiu para o desenvolvimento das plântulas. Segundo Lazzarini et al. (2017), a utilização de luz de LED branca (6500K) nos cultivos pode aumentar o crescimento das plantas, pois permite que a luz penetre melhor nas folhas, para ser utilizada na fotossíntese.

A diferença do crescimento das plântulas em resposta à luz podem ser os resultados da adaptação às condições ambientais dos habitats das espécies de orquídeas, uma vez que nessa família, a exigência de luz é espécie-específica (ZHANG et al., 2018). Por terem como habitat as florestas, e estarem em condições de sub-bosque, a fotossíntese e o crescimento da maioria das orquídeas requer um baixo nível de irradiância (ZHANG et al., 2007; CHANG et al., 2011). Este fato pode explicar o porquê de o T4 ter apresentado menores resultados, uma vez que foi a maior irradiância utilizada.

Além da adaptação ao ambiente, as orquídeas também podem requerer diferentes condições de luz em diferentes estádios de desenvolvimento após a germinação (ZHANG et al., 2018), inclusive *in vitro*. Para híbridos de *Phalaenopsis*, uma intensidade de luz relativamente menor ajuda na germinação das sementes, enquanto, uma intensidade mais forte promove o crescimento das mudas, uma intensidade ainda mais alta é recomendada para a indução de caracteres florais (WANG, 1995).

De maneira geral, em todos os tratamentos a %PNC foi baixa, evidenciando elevada sobrevivência dos propágulos, sendo seu maior valor 6,02% no T4. Os maiores valores de %PC foram encontrados para T3 com 99,24%, entretanto sem diferença significativa de T1, T2 e T5, com 95,95; 97,36 e 97,15%, respectivamente (Figura 6).

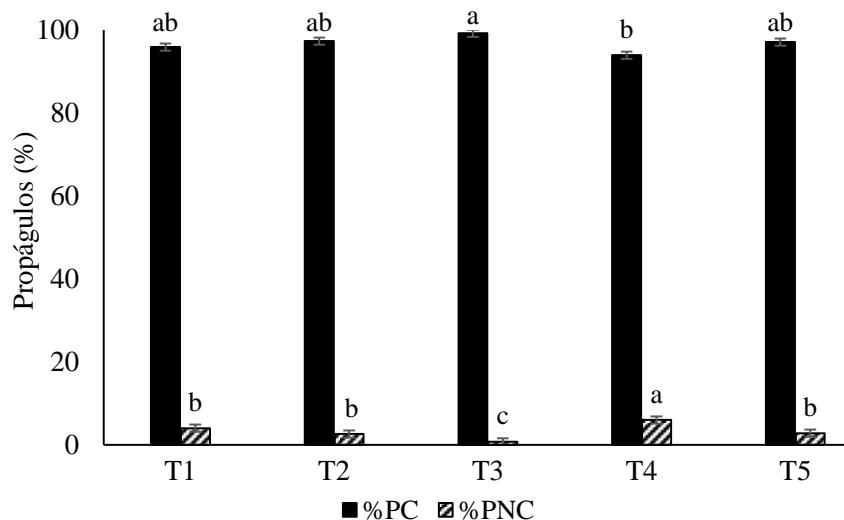


FIGURA 6. Propágulos clorofilados (%PC) e propágulos não clorofilados (%PNC) de *Brassavola tuberculata* Hook. em diferentes condições de luz aos 90 dias de cultivo *in vitro*. UFGD, Dourados-MS, 2020. T1- LED 3000 K ($42 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); T2- LED 3000 K ($86 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); T3- LED 6500 K ($58 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); T4- LED 6500 K ($108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e T5- fluorescente 6500 K ($23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Barras seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

A irradiância, comprimento de onda e o fotoperíodo influenciam diretamente a morfogênese das plantas quando cultivadas *in vitro* (TEIXEIRA da SILVA et al., 2015; TAIZ et al., 2017; ZHANG et al., 2018). As salas de crescimento geralmente utilizam lâmpadas fluorescentes brancas (6500 K) que vêm sendo substituídas por lâmpadas LEDs brancas (6500 K). Porém, a eficiência do LED utilizado varia entre os espectros, irradiâncias, fotoperíodo e as espécies (HANUS-FAJERSKA e WOJCIECHOWSKA, 2017; LAZZARINI et al., 2018).

Assim, considerando que Orchidaceae é uma família com ampla variedade de espécies, não é possível generalizar os efeitos das fontes de luz tanto na germinação de sementes quanto no estabelecimento inicial *in vitro*. Para a espécie *B. tuberculata* pode-se inferir que irradiância proporcionada pelos LEDs teve maior influência no estabelecimento *in vitro* do que os comprimentos de onda utilizados.

4. CONCLUSÃO

- As fontes de luz utilizadas não influenciaram a germinação das sementes de *Brassavola tuberculata* Hook.;

- A utilização do LED 3000 K, com irradiância de 42 e 86 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e do LED 6500 K (58 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) proporcionaram o desenvolvimento inicial de *B. tuberculata* em menor período de tempo.

5. REFERÊNCIAS

ARAÚJO, S. A. C.; DEMINICIS, B. B. Fotoinibição da Fotossíntese. **Revista Brasileira de Biociências**, v.7, n.4, p.463-472, 2009.

CAMPOS, D. M. **Orquídea: manual prático de reprodução**. Rio de Janeiro: Expressão e Cultura, 2002. 143p.

CARDOSO, J. C. Publicação em cultivo *in vitro* de plantas: qualidade para o avanço científico e tecnológico. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 4, p.383-384, 2014.

CHANG, W.; ZHANG, S. B.; LI, S. Y.; HU, H. Ecophysiological significance of leaf traits in *Cypripedium* and *Paphiopedilum*. **Physiologia Plantarum**, v. 141, n. 1, p 30-39, 2011.

FAJARDO, C. G.; VIEIRA, F. A.; FELIX, L. P. & MOLINA, W. F. 2017. Negligence in the Atlantic forest, northern Brazil: a case study of an endangered orchid. **Biodiversity and Conservation**, v. 26, n. 5, p. 1047-1063, 2017.

FARIA, R. T.; ASSIS, A. M.; UNEMOTO, L. K.; CARVALHO, J. F. R. P. **Produção de orquídeas em laboratório**, Londrina: Mecenias, 2012. 124 p.

FERREIRA, A. W. C.; LIMA, M. I. S.; FARIA, R. T.; RIBEIRO, J. P. N.; CASAL, C. A. Propagação *in vitro* de *Baptistonia pubes* (Lindl.) Chiron & V.P. Castro (*Oncidium pubes* Lindl.) (Orchidaceae). **Acta Botânica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 636-639, 2010.

GALE, S. W.; FISCHER, G. A.; CRIBB, P. J.; FAY, M. F. Orchid conservation: bridging the gap between science and practice. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 186, n. 4, p. 425-434, 2018.

GODO, T.; FUJIWARA, K.; GUAN K.; MIYOSHI, K. Effects of wavelength of LED-light on *in vitro* asymbiotic germination and seedling growth of *Bletilla ochracea* Schltr. (Orchidaceae). **Plant biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 397, 2011.

GUPTA, S. D.; JATOTHU, B. Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in *in vitro* plant growth and morphogenesis. **Plant Biotechnology Reports**, v. 7, n. 3, p. 211-220, 2013.

HANUS-FAJERSKA, E.; WOJCIECHOWSKA, R. (2017) Impact of Light-Emitting Diodes (LEDs) on propagation of orchids in tissue culture. **In: Light Emitting Diodes for Agriculture**, 2017. 305-320 p.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. Intellectual property rights in Brazilian floriculture: innovations for the growth and development of the market. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 23, n. 3, p. 296- 306, 2017.

LAZZARINI, L. E. S.; PACHECO, F. V.; SILVA, S. T.; COELHO, A. D.; MEDEIROS, A. P. R.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, J. E. B. P.; SOARES, J. D. R. Use of light-emitting diode (LED) in the physiology of cultivated plants – review. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 16, n. 2, p.137-144, 2018.

MASSARO, R.; FADIN, D. A.; DE MORAES, C. P.; VIEIRA, A. S.; MARTELINE, M. A. J. I. S. B. Light quality *in vitro* growth and acclimatization of two varieties of *Phalaenopsis amabilis* alba Blume (Orchidaceae). **Iheringia**, v. 73, n. 2, p. 208-215. 2018.

MENGARDA, L. H. G.; COLA, G. P. A.; DE OLIVEIRA, S. C. & DE FREITAS, A. R. Multiplication, rooting *in vitro*, and acclimatization of *Brassavola tuberculata* Hook. (Orchidaceae), an orchid endemic to the brazilian Atlantic Rainforest. **Bioscience Journal**, v. 33, n. 3, p. 730-738, 2017.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiology Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473- 497, 1962.

RASMUSSEN, H. N. Recent developments in the study of orchid mycorrhiza. **Plant soil Netherlands**, v. 244, n. 1, p. 149-163, 2002.

RIBEIRO, L. M.; SORGATO, J. C.; SCALON, S. P. Q.; SOARES, J. S.; RIBEIRO, I. S. Influência da luz, ventilação natural e tamanho do frasco no crescimento e desenvolvimento de denphal (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias (Agrária)**. v. 14, n. 3, 2019.

RODRIGUES, L. A.; PAIVA, N. V. B.; BOARETTO, A. G.; OLIVEIRA, J. F.; TORREZAN, M. A.; LIMA, S. F. *In vitro* propagation of *Cyrtopodium saintlegerianum* rchb. f. (orchidaceae), a native orchid of the Brazilian savannah. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 15, n. 1, p. 10-17, 2015.

SEATON, P. T.; HOSOMI, S. T.; CUSTÓDIO, C. C.; MARKS, T. R.; MACHADO-NETO, N. B.; PRITCHARD, H. W. Orchid seed and pollen: a toolkit for long-term storage, viability assessment and conservation. In: Lee YI, Yeung ET (eds) Orchid propagation: from laboratories to greenhouses—methods and protocols. **Humana Press**, p. 71–98, 2018.

SOARES, J. S.; ROSA, Y. B. C. J.; MACEDO, M. C.; SORGATO, J. C.; ROSA, D. B. C. J.; ROSA, C. B. C. J. Cultivo *in vitro* de *Brassavola tuberculata* (Orchidaceae) em meio de cultura alternativo suplementado com diferentes concentrações de açúcar e carvão ativado. **Magistra**, v. 24, n. 3, p. 226-233, 2012.

SOARES, J.S.; ROSA, Y. B. C. J.; TATARA, M. B.; SORGATO, J. C.; LEMES, C. S. R. Identificação da viabilidade de sementes de orquídeas pelo teste de tetrazólio. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 5, p. 2275-2284, 2014.

SOARES, J. S. **Técnicas de cultivo *in vitro* como alternativa para a conservação de *Schomburgkia crispa* Lindl. (Orchidaceae) e sua reintrodução em ambiente natural.** Tese de Doutorado em Recursos Naturais – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados - MS, 2018.

SOARES, J. S.; SANTIAGO E. F.; SORGATO, J. C. Conservation of *Schomburgkia crispa* Lindl. (Orchidaceae) by reintroduction into a fragment of the Brazilian Cerrado. **Journal for Nature Conservation**. v. 53, n. 125754, p. 1617-1381, 2020.

SORGATO, J. C.; SOARES, J. S.; ROSA, D. B. C. J.; LEME, C. S. R. L.; PEREIRA, S. T. S. e REZENDE, L. S. de R. Imersão em solução nutritiva e ácido giberélico promovem a aclimatização intermediária de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Sure. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 13, n. 3, p. 176-180, 2015.

SORGATO, J. C.; SCHULTZ SOARES, J.; SCALON, S. DE P. Q.; TARGANSKI SAJOVIC PEREIRA, S.; DE FREITAS BROTTTO, D.; MARLON RIBEIRO, L. Does soaking time during disinfestation affect germination rates in *Dendrobium*? **Bioscience Journal**, v. 36, n. 1, p. 42-50. 2020a.

SORGATO, J. C.; MUDOLON, E. D.; GUIMARÃES, F. F.; SOARES, J. S.; RIBEIRO, L. M. Light sources on the germination and initial *in vitro* establishment of *Schomburgkia crispa* Lindl., a species of the Brazilian Cerrado, **Ciência Rural**, 2020b (prelo).

SUZUKI, R. M.; FERREIRA, W. M. Introdução às técnicas de micropropagação de orquídeas. In: L.M. Barbosa & N.A. Santos Jr. (orgs.). **A Botânica no Brasil: pesquisa, ensino e políticas públicas ambientais**. São Paulo, 2007. p.655-659.

SUZUKI, R. M.; MOREIRA, V. C.; NAKABASHI, M.; FERREIRA, W. de M.; Estudo da germinação e crescimento *in vitro* de *Hadrolaelia tenebrosa* (Rolfe) Chiron & V.P. Castro (Orchidaceae), uma espécie da flora brasileira ameaçada de extinção. **Hoehnea**, v. 36, n. 4, p. 657- 666, nov. 2009.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, **A Fisiologia Vegetal**, 2017. p. 918.

TEIXEIRA DA SILVA, J. A.; HOSSAIN, M. M.; SHARMA, M.; DOBRÁNSZKI, J.; CARDOSO, J. C.; SONGJUN, Z. Acclimatization of *in vitro*-derived *Dendrobium*. **Horticultural Plant Journal**, v. 3, n. 3, p. 110-124, 2017.

TEIXEIRA DA SILVA, J. A.; TSAVKELOVA, E. A.; NG, T. B.; PARTHIBHAN, S.; DOBRÁNSZKI, J.; CARDOSO, J. C.; RAO, M. V.; ZENG, S. Asymbiotic *in vitro* seed propagation of *Dendrobium*. **Plant cell reports**, v. 34, n. 1, p. 1685-1706, 2015.

WANG, Y. T. *Phalaenopsis* orchid light requirement during the induction of spiking. **Hortscience**, v. 30, n. 1, p. 59–61, 1995.

YANG, F. S.; SUN, A. H.; ZHU, J.; DOWNING, J.; SONG, X. Q.; LIU, H. Impacts of host trees and sowing conditions on germination success and a simple *ex situ* approach to generate symbiotic seedlings of a rare epiphytic orchid endemic to Hainan Island, China. **The Botanical Review**, v. 83, p. 74-86, 2017.

ZAHARA, M.; DATTA, A.; BOONKORKAEN, P.; MISHRA, A. The effects of different media, sucrose concentrations and natural additives on plantlet growth of *Phalaenopsis* hybrid 'Pink'. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 60, 2017.

ZHANG, S.; HU, H.; XU, K.; LI, Z. R.; YANG, Y. P. Flexible and reversible responses to different irradiance levels during photosynthetic acclimation of *Cypripedium guttatum*. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, n. 5, p. 611-620, 2007.

ZHANG, S.; YANF, Y.; LI, J.; QIN, J.; ZHANG, W.; HU, H. Physiological diversity of orchids. **Plant diversity**, v. 40, n. 4, p. 196-208, 2018.

CAPÍTULO II - SUBSTRATOS NO CULTIVO *EX VITRO* DE *Brassavola tuberculata* HOOK. APÓS GERMINAÇÃO ASSIMBIÓTICA

RESUMO

O experimento foi realizado para estudar a eficiência e viabilidade da utilização de diferentes substratos para a aclimatização de plantas de *B. tuberculata* oriundas de semeadura *in vitro*. Foram utilizadas plântulas com 20 meses de cultivo *in vitro*, sendo avaliadas quanto ao número de folhas (NF), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CR), altura de planta (AP) e massa fresca (MF). Na sequência, as plântulas foram transferidas para recipientes de cultivo, sendo um terço do seu volume preenchido com os seguintes substratos: S1) 100% paú de buriti; S2) 100% esfagno; S3) 100% chips de coco; S4) 100% substrato comercial; S5) 50% paú de buriti + 50% esfagno; S6) 50% paú de buriti + 50% substrato comercial; S7) 50% esfagno + 50% chips de coco; S8) 50% esfagno + 50% substrato comercial; S9) 50% chips de coco + 50% substrato comercial e S10) 50% chips de coco + 50% paú de buriti. Aos 180 (T1) e 365 (T2) dias após a aclimatização as características descritas inicialmente foram novamente avaliadas. Os tratamentos foram arranjados em sub parcelas, onde as parcelas foram constituídas de dez substratos e as sub parcelas de três tempos de avaliação com dez repetições de uma planta cada. Ao final do período experimental verificou-se maior porcentagem de sobrevivência quando as plantas foram cultivadas nos substratos S1 e S10, com médias de 86,66%. Houve efeito significativo da interação sobre NF, NR, MF, com os melhores resultados no S10 (18,44 folhas; 10,11 raízes; 0,950 g) e para CR no S5 (63,62 mm), enquanto para a característica AP, houve efeito isolado do tempo de avaliação, com o maior valor aos 365 dias de aclimatização (60,52 mm). Os substratos compostos por paú de buriti, em mistura ou não com chips de coco, foram os mais indicados para o desenvolvimento vegetativo de *Brassavola tuberculata* Hook. durante a fase de aclimatização.

Palavras-chave: Ochidaceae; Aclimatização; Planta nativa

ABSTRACT

The experiment was carried out to study the efficiency and viability of using different substrates for the acclimatization of *B. tuberculata* plants from sowing *in vitro*. Seedlings with 20 months of *in vitro* cultivation were used, being evaluated for the number of leaves (NL), number of roots (NR), length of the largest root (LR), plant height (PH) and fresh weight (FW). Then, the seedlings were transferred to cultivation containers, one third of their volume being filled with the following substrates: S1) 100% paú de buriti; S2) 100% sphagnum; S3) 100% coconut chips; S4) 100% commercial substrate; S5) 50% paú de buriti + 50% sphagnum; S6) 50% paú de buriti + 50% commercial substrate; S7) 50% sphagnum + 50% coconut chips; S8) 50% sphagnum moss + 50% commercial substrate; S9) 50% coconut chips + 50% commercial substrate and S10) 50% coconut chips + 50% paú de buriti. At 180 (T1) and 365 (T2) days after acclimatization, the characteristics described initially were evaluated again. The treatments were arranged in sub plots, where the plots consisted of ten substrates and the sub plots of three times of evaluation with ten replicates of one plant each. At the end of the experimental period, a higher percentage of survival was found when the plants were grown on substrates S1 and S10, with averages of 86.66%. There was a significant effect of the interaction on NL, NR, FW, with the best results in S10 (18.44 leaves; 10.11 roots; 0.950 g) and for LR in S5 (63.62 mm), while for the characteristic PH, there was an isolated effect of the evaluation time, with the highest value at 365 days of acclimatization (60.52 mm). The substrates composed of paú de buriti, mixed or not with coconut chips, proved to be the most suitable for the vegetative development of *Brassavola tuberculata* Hook. during the acclimatization phase.

Keywords: Orchidaceae; Acclimatization; Native plant

1. INTRODUÇÃO

O setor de flores e plantas ornamentais vem se destacando nos últimos anos, com grande perspectiva de crescimento econômico, ganhando espaço notório no seguimento do agronegócio brasileiro. Durante o ano de 2018 movimentou R\$ 8,1 bilhões e para 2019 a previsão é de um aumento de 7% (JUNQUEIRA e PEETZ, 2018; ENFLOR, 2019), com destaque para a produção de orquídeas, tanto exóticas quanto nativas da flora brasileira, como uma atividade crescente no mercado (FARIA et al., 2018).

A espécie *Brassavola tuberculata* Hook. também conhecida como “chuva de prata, cebolinha, rabo de rato e orquídea dama-da-noite”, tem habito epifítico, é unifoliada, apresentando folhas e caule teretes, cespitosa, que crescem formando densas touceiras com inflorescências que podem ter duas a seis flores agrupadas e perfumadas, de coloração creme a verde-claro, com sépalas e pétalas longo-lanceoladas e labelo largo, com extremidade pontiaguda. Se destaca entre as orquídeas nativas do Brasil por seu elevado valor ornamental, rusticidade, floração abundante e duradoura, sendo esse conjunto de características responsável pelo seu potencial ornamental (RECH et al., 2010; SILVA et al., 2015).

A espécie é nativa dos estados de Alagoas, Bahia, Paraíba, Paraná, Rio Grande do Sul, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Santa Catarina, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Sergipe, Rondônia e Tocantins (BARROS et al., 2020), e os limites que ela pode enfrentar ainda são considerados indeterminados, uma vez que, fatores bióticos e abióticos determinam seu crescimento, desenvolvimento e sucesso reprodutivo (HERMANN et al., 2011; FAJARDO et al., 2017; GALE et al., 2018).

Como a exigência de mudas para suprir a demanda de mercado é elevada, a utilização de técnicas de propagação *in vitro* é amplamente utilizada, principalmente em gêneros de maior comercialização (JUNQUEIRA e PEETZ, 2017). Também pode ser utilizada em estudos para a conservação da biodiversidade, pois possibilita a obtenção de plantas em grande escala, em tempo relativamente curto e com alta qualidade, o que contribui para diminuição do risco de extinção (CARDOSO, 2014; HANUS-FAJERSKA e WOJCIECHOWSKA, 2017; FAY et al., 2018).

Um dos maiores obstáculos para a aplicação prática do cultivo *in vitro* é obter sucesso na transferência de mudas da condição *in vitro* para *ex vitro* (CHANDRA et al.,

2010; DEB e IMCHEN, 2010). O cultivo *ex vitro* (aclimatização) é um processo importante nos protocolos de multiplicação, uma vez que as plantas micropropagadas podem não sobreviver à transferência para condições heterotróficas (LEMES, 2015; MENGARDA et al., 2017).

Dessa maneira, a aclimatização é definida como a adaptação climática de um organismo, especialmente uma planta, que é transferido para um novo ambiente, sendo este processo realizado de forma artificial (FARIA et al., 2012). Esta etapa é um passo importante dentro do sistema de cultivo *in vitro*, pois há necessidade de controlar os fatores que possam limitar o seu desenvolvimento, tais como temperatura, luminosidade, umidade, substrato e nutrientes (COLOMBO et al., 2005).

Assim, durante a fase de aclimatização das orquídeas, torna-se essencial a utilização de substratos que permitam o estabelecimento vegetativo dessas plantas, uma vez que influenciam a qualidade do produto final, principalmente como suporte ao sistema radicular (COLOMBO et al., 2005; FARIA et al., 2018). Ainda, a escolha de um substrato deve envolver sua disponibilidade regional, a garantia de sua aquisição permanente, a conservação dos recursos naturais e seu custo (ALVES et al., 2012).

Dentre os substratos usualmente empregados no cultivo de orquídeas destacam-se os oriundos do processamento industrial da casca de coco e o esfagno (FARIA et al., 2010). Uma alternativa de substrato para essas plantas é o paú de buriti, um produto originado do caule decomposto do buriti (*Mauritia flexuosa* Lin. Fil), uma palmeira do Cerrado que apresenta potencial para compor substratos orgânicos (SOUZA e VIANA, 2018). Na família Orchidaceae temos a *Vanilla palmarum* Lindl., entre algumas das epífitas que ocorrem naturalmente no buriti (PANSARIN et al., 2012). Este substrato também é empregado no cultivo de castanheira-do-gurgueia (*Dipteryx lacunifera* Ducke), helicônia (*Heliconia rostrata* Ruiz & Pav.), maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg), mamoeiro (*Carica papaya* L.) e também para a orquídea *Schomburgkia crispa* Lindl., entre outros (CALVACANTE et al., 2011; BECKMAM-CAVALCANTE et al., 2011; SILVA, 2012; SOARES, 2018).

Diante da busca de um substrato adequado para minimizar o estresse causado pela aclimatização, objetiva-se avaliar a eficiência e viabilidade da utilização de diferentes substratos para a aclimatização de plantas de *Brassavola tuberculata* Hook. oriundas de sementeira *in vitro*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na área de Jardinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) (22°11'S, 54°56'O, altitude 446 m), de maio de 2018 a junho de 2019. 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 e precipitação total anual entre 1.250 e 1.500 mm (FIETZ et al., 2017).

Para o estudo, foram utilizadas plântulas de *Brassavola tuberculata* obtidas a partir da germinação assimbiótica das sementes oriundas dos matrizeiros do orquidário da FCA-UFGD. Essas matrizes são cultivadas em viveiro coberto pela sobreposição de duas telas de sombreamento de 50%, propiciando irradiância de 235 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sob condições médias de temperatura e umidade relativa de $22,6 \pm 5$ °C e $73,9 \pm 10\%$, respectivamente, com irrigação realizada por microaspersores tipo bailarina, posicionados a um metro acima das plantas, totalizando uma lâmina de água de 1 mm dia⁻¹. Essas plântulas foram cultivadas *in vitro* no Laboratório de cultivo *in vitro* de Flores e Plantas Ornamentais da FCA-UFGD por 20 meses.

Foram utilizados 0,1 g de sementes da espécie, as quais foram desinfestadas com 15 mL de solução de hipoclorito de sódio a 0,8%, por 5 minutos, e em seguida receberam tríplice lavagem com água destilada para a realização da semeadura *in vitro*. O meio de cultura utilizado foi o de Murashige e Skoog (1962), na metade da sua concentração (MS ½), solidificado com a utilização de 6,0 g L⁻¹ de ágar bacteriológico e suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose. As culturas foram semeadas em setembro de 2016 e acondicionadas em sala de crescimento com temperatura, luminosidade e fotoperíodo controlados (25°C ± 2 ; 18,9 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; 16 h, respectivamente), permanecendo nessas condições por 20 meses, com subcultivos a cada seis meses.

Após este período, as plântulas foram retiradas dos frascos e lavadas em água corrente para total remoção do excesso de meio de cultura. Posteriormente, foram avaliadas quanto ao número de folhas (NF), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CR), altura de planta (AP) e massa fresca (MF), para o início do período experimental, sendo estes valores considerados como iniciais (T0).

Na sequência, conjuntos de dez plântulas ($5,23 \pm 1,53$ cm) foram transferidos para recipientes de polipropileno transparente com capacidade para 1000 mL (20 x 10 x 5 cm), providos de furos na base para drenagem e na tampa para trocas gasosas, sendo

um terço do seu volume preenchido com os seguintes substratos (S): S1) 100% paú de buriti; S2) 100% esfagno; S3) 100% chips de coco; S4) 100% substrato comercial; S5) 50% paú de buriti + 50% esfagno; S6) 50% paú de buriti + 50% substrato comercial; S7) 50% esfagno + 50% chips de coco; S8) 50% esfagno + 50% substrato comercial; S9) 50% chips de coco + 50% substrato comercial e S10) 50% chips de coco + 50% paú de buriti (Figura 1).



FIGURA 1. Plântulas de *Brassavola tuberculata* Hook. oriundas de cultivo *in vitro* aclimatizadas nos seguintes substratos: S1) 100% paú de buriti; S2) 100% esfagno; S3) 100% chips de coco; S4) 100% substrato comercial; S5) 50% paú de buriti + 50% esfagno; S6) 50% paú de buriti + 50% substrato comercial; S7) 50% esfagno + 50% chips de coco; S8) 50% esfagno + 50% substrato comercial; S9) 50% chips de coco + 50% substrato comercial e S10) 50% chips de coco + 50% paú de buriti. UFGD, Dourados-MS, 2020.

Os substratos utilizados como tratamentos foram submetidos à fervura por 30 minutos e esterilizados em autoclave (121 °C e 1,1 atm), por 20 minutos. A caracterização física de cada substrato utilizado é mostrada no Quadro 1.

QUADRO 1. Caracterização das propriedades físicas dos materiais utilizados na formulação dos substratos para aclimatização de *Brassavola tuberculata* Hook. UFGD, Dourados-MS, 2020.

	Ma (%)	Mi (%)	P total (%)	CMRA (%)	De (kg m ³)
Chips de coco	-	-	95,0	13,5	680
Esfagno	10,92	71,47	82,4	71,5	280
Substrato Comercial	-	-	-	35,0	130
*Paú de Buriti	35,0	57,0	92,0	57,0	670

Ma = Macroporosidade, Mi = Microporosidade, P total = Porosidade total, CMRA = Capacidade máxima de retenção de água; De = densidade do substrato.

*Valores das propriedades físicas do substrato paú de buriti conforme Brito et al. (2017).

Após o transplântio, as plantas foram mantidas em viveiro telado, permanecendo por 365 dias nas mesmas condições citadas para plantas matrizes, sendo todos os recipientes fechados durante os primeiros 15 dias de aclimatização para minimizar o estresse.

Foram realizadas adubações, via foliar, a cada 15 dias, com 2,0 mL L⁻¹ de NPK 10-10-10, acrescido dos micronutrientes: 0,025% de magnésio, 0,02% de boro, 0,05% de cobre, 0,10% de ferro, 0,05% de manganês, 0,0005% de molibdênio e 0,05% de zinco, com teor máximo de cloro de 0,025%. Ao zero, 30 e 60 dias, as plantas foram pulverizadas, preventivamente, com O-S-dimetil-N-acetil-fosforoamidotioato (4 mg L⁻¹) e Mancozeb (4 mg L⁻¹). Tanto para a adubação foliar, quanto para o controle fitossanitário, foi utilizado pulverizador costal com capacidade para 5 L.

As características NF, NR, CR, AP e MF foram avaliados no início da aclimatização (T0) e aos 180 (T1) e 365 (T2) dias após a aclimatização (DAA). Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado (DIC) e os tratamentos foram arrançados em sub parcelas, onde as parcelas foram constituídas de dez substratos e as sub parcelas de três tempos de avaliação com dez repetições de uma planta cada. A porcentagem de sobrevivência das plantas (% SOB) foi avaliada apenas no T2. Foi utilizado DIC com 10 tratamentos (S) e 20 repetições de uma planta cada. Os dados foram transformados para $\sqrt{(x+1)}$ para diminuir o coeficiente de variação e, a seguir, submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a sobrevivência das plantas de *Brassavola tuberculata* houve efeito significativo na análise de variância entre os tratamentos ($p < 0,05$) (Quadro 2).

QUADRO 2. Tabela de Análise de Variância da sobrevivência das plantas de *Brassavola tuberculata* Hook. em diferentes substratos UFGD, Dourados-MS, 2020.

Fator de Variação	GL	Quadrado Médio
		SOB
Trat	9	867,13*
Erro	18	23,70
Total	299	867,03
Média Geral		59,00
C.V. (%)		3,92

* significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de Skott-Knott. SOB = sobrevivência.

Ao final do período experimental verificou-se maior %SOB quando as plantas foram cultivadas nos substratos S1 e S10 com média de 86,66% de plantas vivas em ambos (Quadro 3).

QUADRO 3. Sobrevivência de plantas de *Brassavola tuberculata* Hook. após 365 DAA em função de diferentes substratos: S1) 100% paú de buriti; S2) 100% esfagno; S3) 100% chips de coco; S4) 100% substrato comercial; S5) 50% paú de buriti + 50% esfagno; S6) 50% paú de buriti + 50% substrato comercial; S7) 50% esfagno + 50% chips de coco; S8) 50% esfagno + 50% substrato comercial; S9) 50% chips de coco + 50% substrato comercial e S10) 50% chips de coco + 50% paú de buriti. UFGD, Dourados-MS, 2020.

Substratos	%SOB
S1: PB	86,66 a
S2: ES	53,33 c
S3: CC	53,33 c
S4: SC	53,33 c
S5: PB + ES	53,33 c
S6: PB + SC	33,33 e
S7: ES+ CC	66,33 b
S8: ES + SC	66,33 b
S9: CC + SC	43,33 d
S10: CC + PB	86,66 a
MÉDIA	59,60
C.V. (%)	3,92

Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem pelo teste de Scott-Knott.

É possível observar que o substrato paú de buriti, com a segunda maior capacidade de retenção de água (57%), mesmo em conjunto com os chips de coco que apresenta a menor capacidade de retenção de água (13,5%) dentre os substratos utilizados, favoreceu a sobrevivência das plantas (Quadros 1 e 3). No cultivo comercial, para a aclimatização de muitas orquídeas epífitas, são utilizados substratos com elevada retenção de água, dentre os quais o mais comum é o esfagno (FARIA, et al., 2018). Para *B. tuberculata*, uma espécie epífita nativa, que ocorre em matas ciliares (RECH et al., 2010), um substrato com maior porosidade total e menor retenção de água em relação ao esfagno, como o paú de buriti, contribuiu para a elevada porcentagem de sobrevivência das plantas.

A porcentagem de sobrevivência é uma característica determinante na escolha do substrato (ZANDONÁ et al., 2014). De acordo com os resultados deste trabalho pode-se observar que o paú de buriti aumentou significativamente a sobrevivência das plantas, porém quando misturado com esfagno ou substrato comercial apresentou os menores resultados (%SOB = 53,3 e 33,3 respectivamente), possivelmente causados pelo aumento da capacidade de retenção de água proporcionado por estas misturas, o que pode ter contribuído para a alta mortalidade das plantas.

O uso do paú de buriti como substrato para o cultivo de orquídeas é relatado por Soares (2018) na espécie nativa *Schomburgkia crispa* Lindl. Neste trabalho a autora observou 41,6% de sobrevivência em paú de buriti. Em estudos com outras famílias botânicas, o paú de buriti também se mostrou eficiente. Para a produção de mudas do mamoeiro formosa (cv. Caliman), resultados satisfatórios foram encontrados com a mistura de caule decomposto de buriti + solo e areia (1:1) (ALBANO et al. 2014). Para *Lactuca sativa* L. resultados positivos na germinação e crescimento vegetativo foram observados quando utilizado paú de buriti sem mistura (VASCONCELOS et al., 2018).

Os resultados obtidos também podem estar relacionados com a densidade dos substratos, uma vez que Kampf (2000) afirma que quanto menor a densidade, mais poroso é o substrato, fato que pode ter favorecido as plantas de *B. tuberculata*, aumentando a superfície de contato da raiz com o substrato, e quando aliado a CMRA resultou em uma alta porcentagem de sobrevivência.

Para as demais características, a análise de variância revelou que para o número de folhas (NF), número de raízes (NR), comprimento de raízes (CR) e massa fresca (MF) houve efeito significativo ($p > 0,05$) do tempo de avaliação, dos tratamentos e da interação entre esses dois fatores, enquanto que para a altura de planta (AP) houve efeito isolado do tempo de avaliação (Quadro 4).

QUADRO 4. Tabela de Análise de Variância das características avaliadas em plantas de *Brassavola tuberculata* Hook em diferentes substratos e tempos. UFGD, Dourados-MS, 2020.

Fator de Variação	GL	Quadrado Médio				
		NF	NR	CR	AP	MF
T	2	1484,22*	110,46*	5787,89*	1728,87*	1,474*
Erro	18	18,71	6,59	115,78	160,06	0,069
S	9	288,62*	54,90*	901,67*	284,78 ^{ns}	0,465*
T x S	18	98,00*	22,82*	455,62*	262,84 ^{ns}	0,178*
Erro	243	39,76	10,89	132,45	219,86	0,086
Total	299	18595,10	4046,55	62968,96	68854,50	34,36
Média Geral		11,06	6,43	32,95	56,14	0,58
C.V. (%)		24,05	22,52	17,35	13,67	12,64

* significativo a 5% de probabilidade; ^{ns}= não significativo, pelo teste de Skott-Knott. T = tempo de avaliação; S = substrato; NF = número de folhas; NR = número de raízes; CR = comprimento da raiz; AP = altura de planta; MF = massa fresca.

No que se refere ao NF, a interação T x S demonstrou que os maiores valores, de maneira geral, ocorreram em T0 (15,51 folhas) e os menores em T2 (8,84 folhas) (Figura 2A). Verificou-se que os valores de NR e CR reduziram entre os tempos T0 (NR = 7,45 raízes; CR = 32,36 mm) e T1 (NR = 5,93 raízes; CR = 25,65 mm), com incremento no T2 aos 365 dias (NR= 6,48 raízes; CR= 40,83 mm) (Figura 2B e 2C). Com relação a MF, observou-se 0,669 g em T0, decrescendo para 0,450 g em T1 e aumentando para 0,648 g em T2 (Figura 2D).

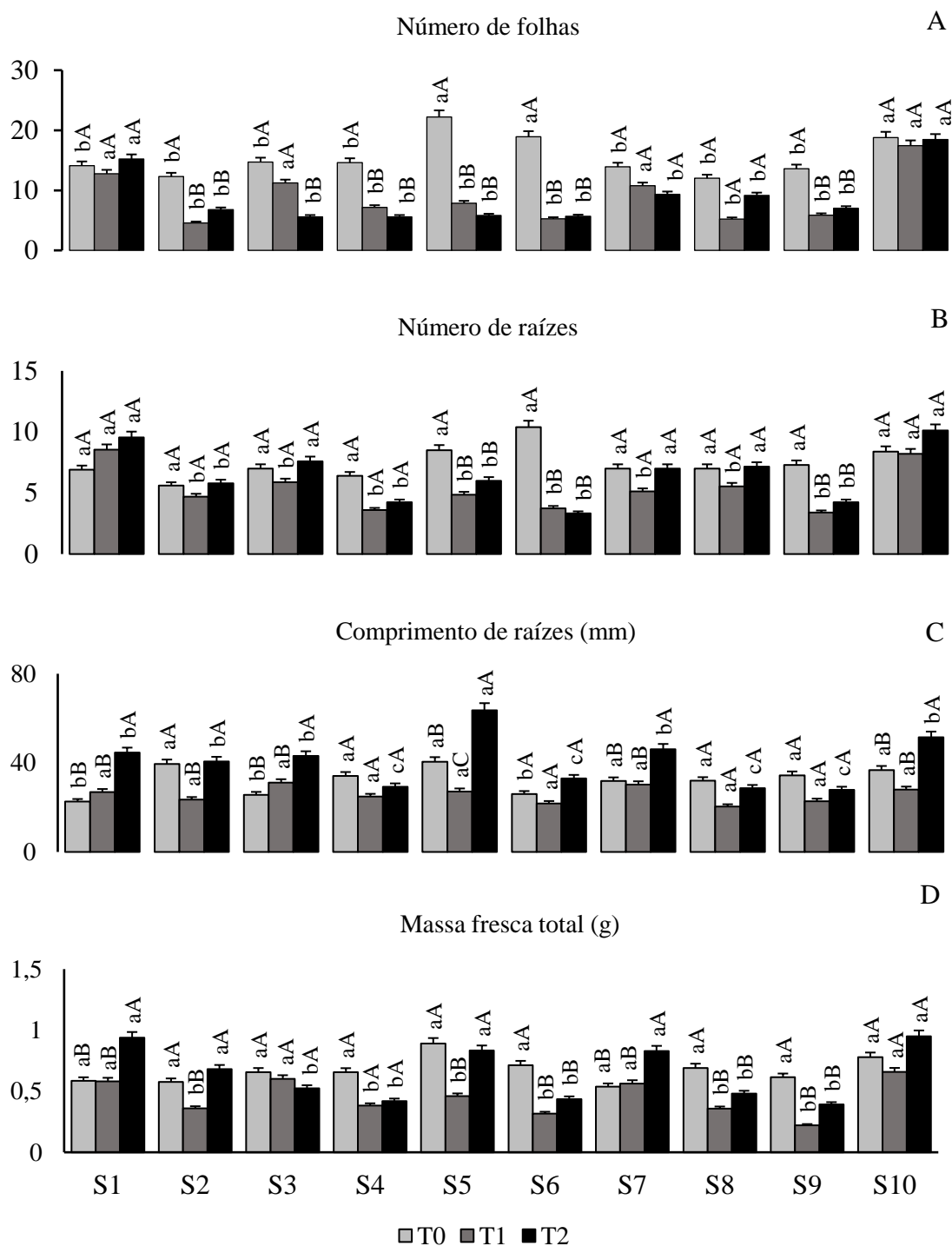


FIGURA 2. Número de folhas, número de raízes, comprimento de raízes e massa fresca em relação ao tempo de avaliação (T0, T1=180 DAA e T2=360 DAA) e tipos de substratos: S1) 100% paú de buriti; S2) 100% esfagno; S3) 100% chips de coco; S4) 100% substrato comercial; S5) 50% paú de buriti + 50% esfagno; S6) 50% paú de buriti + 50% substrato comercial; S7) 50% esfagno + 50% chips de coco; S8) 50% esfagno + 50% substrato comercial; S9) 50% chips de coco + 50% substrato comercial e S10) 50% chips de coco + 50% paú de buriti em plantas de *Brassavola tuberculata* Hook. Letras maiúsculas comparam os diferentes tempos dentro do mesmo substrato e letras minúsculas comparam o mesmo tempo em substratos diferentes. Letras iguais, não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p > 0,05$). UFGD, Dourados-MS, 2020.

Aos 365 dias após a aclimatização, os maiores valores para NF foram (15,22 e 14,44 folhas) ocorreram nas plantas cultivadas nos substratos S1 e S10, respectivamente. Para o NR, o maior valor (10,11 raízes) ocorreu no S10, não diferindo estatisticamente de S1, S3, S8 e S7 (9,55; 7,60; 7,16 e 7,00 raízes, respectivamente). Por outro lado, observou-se maiores valores de CR no S5, isto é, o substrato composto de paú de buriti + esfagno, apresentando raízes com 63,62 mm. A massa fresca de *B. tuberculata* aos 365 dias de aclimatização, apresentou maiores valores nos substratos S10 e S1 (0,950 e 0,938 g, respectivamente), não diferindo significativamente dos substratos S5, S7 e S2 (0,833 g; 0,830 g; 0,681 g, respectivamente).

Em relação ao número de folhas, observou-se que as plantas quando aclimatizadas nos substratos S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8 e S9 podem ter passado por situação de estresse durante os primeiros 180 dias de aclimatização. Esse estresse pode ser decorrente do fato das folhas das plantas cultivadas *in vitro* serem modificadas para a forma de crescimento heterotrófico, não sendo, assim fotossinteticamente competentes quando transferidas para o ambiente *ex vitro*, sem suprimentos de carboidratos, menor umidade e maior incidência luminosa (PASQUAL, 2001; CHANDRA et al., 2010; SORGATO et al., 2015), o que em conjunto com um substrato que não atendeu às necessidades das plantas, culminou nos menores valores para as variáveis. Essas plantas não retomaram o crescimento mesmo depois de 365 dias de aclimatização.

De maneira geral, os substratos contendo paú de buriti, em mistura ou não, propiciaram os maiores valores para todas as características, incluindo a %SOB, uma vez que o sucesso da aclimatização implica em elevada sobrevivência das plântulas (CALVETE et al., 2002). É possível notar que os substratos S1 e S10 amenizaram o estresse causado pelo processo de aclimatização, uma vez que não houve redução tão considerável dos valores, com destaque para S1, que superou seus valores iniciais e mostrou potencial como substrato alternativo para o cultivo de *B. tuberculata*.

Os resíduos de coco têm sido bastante utilizados no cultivo de orquídeas e têm se mostrado eficientes para epífitas, tais como *Dendrobium nobile* Lindl., (ASSIS et al., 2005), *Oncidium baueri* Lindl. (ASSIS et al., 2008) e *Cattleya intermedia* (LONE et al., 2008). Embora Macedo et. al (2014), ao estudarem resíduos de coco na aclimatização de *B. tuberculata*, tenham constatado que substratos derivados de coco apresentaram condições necessárias ao crescimento e desenvolvimento da parte aérea das plantas, os resultados encontrados nesse trabalho sugerem que os resíduos de coco podem ser

utilizados para *B. tuberculata* quando misturados com paú de buriti, pois proporcionou os maiores valores para a maioria das características avaliadas.

Esses resultados podem ser decorrentes das características do paú de buriti, uma vez que Sousa et al. (2010) verificaram que a adição de composto orgânico paú de buriti melhorou a fertilidade dos substratos estudados, aumentando o pH, os teores de P, K, Ca, Mg e matéria orgânica.

A maior altura das plantas de *B. tuberculata* foi de 60,52 mm aos 365 dias de aclimatização, independente dos substratos avaliados (Quadro 5), indicando crescimento contínuo.

QUADRO 5. Altura da planta (AP) em relação ao tempo de avaliação (T0, T1=180 DAA, T2=365 DAA) em plantas de *Brassavola tuberculata* Hook. UFGD, Dourados-MS, 2020.

DAA	AP (mm)
T0	52,25 b
T1	55,65 b
T2	60,52 a
Média Geral	56,14
C.V. (%)	13,44

Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem pelo teste de Scott-Knott. DAA = dias após aclimatização.

Assim, pode-se inferir que mesmo em situação de estresse, as características dos substratos não interferiram no crescimento em altura de plantas dessa espécie. A aclimatização por si constitui evento gerador de estresse para as plantas, o qual pode ser atenuado ou aumentado dependendo das características do substrato utilizado (SILVA et al., 2006; VILLA et al., 2007).

O paú de buriti quando utilizado sozinho ou em conjunto com chips de coco apresentou os maiores resultados em quase todos os parâmetros avaliados. Assim pode-se inferir que as características desse substrato se mostraram ideais para o desenvolvimento das plantas de *B. tuberculata* (Figura 3).

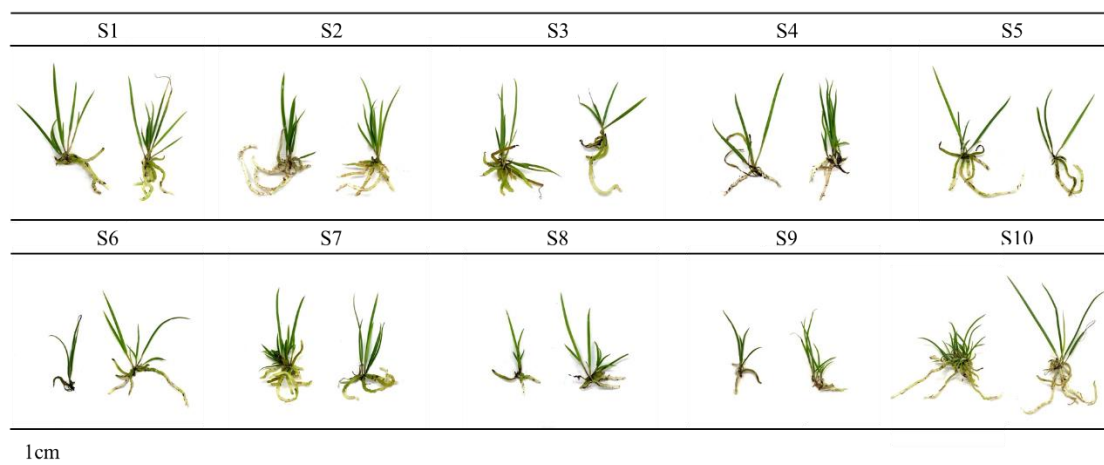


FIGURA 3. Plantas de *Brassavola tuberculata* Hook. aos 365 DAA em função dos diferentes substratos utilizados: S1) 100% paú de buriti; S2) 100% esfagno; S3) 100% chips de coco; S4) 100% substrato comercial; S5) 50% paú de buriti + 50% esfagno; S6) 50% paú de buriti + 50% substrato comercial; S7) 50% esfagno + 50% chips de coco; S8) 50% esfagno + 50% substrato comercial; S9) 50% chips de coco + 50% substrato comercial e S10) 50% chips de coco + 50% paú de buriti. UFGD, Dourados-MS, 2020.

As características físicas são importantes na escolha de um bom substrato para produção de plantas ornamentais, especialmente orquídeas, considerando que a essas plantas apresentam desenvolvimento lento. Existe ainda, a necessidade de avaliar substratos de diferentes regiões do país de maneira que seja possível torná-los disponíveis, pois, além de ser uma alternativa para redução de os custos de produção, também são sustentáveis pelo uso de resíduos acumulados (FARIAS, et al., 2012; LIMA et al., 2019)

De maneira geral, o trabalho mostrou novas possibilidades de substrato para o cultivo de orquídeas. O paú de buriti apresentou potencial para ser utilizado como substrato, tanto sozinho quanto em mistura, sendo necessário novas pesquisas sobre suas características químicas e físicas e quais espécies da família Orchidaceae podem ser favorecidas com o seu uso.

4. CONCLUSÃO

Os substratos compostos de paú de buriti em mistura ou não com chips de coco (1:1, v/v) mostraram ser os mais indicados para o desenvolvimento vegetativo de *Brassavola tuberculata* Hook. durante a fase de aclimatização.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBANO, F.; MARQUES, A.; CAVALCANTE, I. Substrato alternativo para produção de mudas de mamoeiro formosa (cv. Caliman). **Científica**, v. 42, n. 4, p. 388–395, 2014.
- ALVES, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; ANDRADE, L. A.; GONÇASVES, G. S.; SILVA, J. M. Produção de mudas de Angico em diferentes tamanhos de recipientes e composição de substratos. **Revista Verde**, v. 7, n. 2, p. 39-44, 2012.
- ASSIS, A. M.; FARIA, R. T.; COLOMBO, L. A.; CARVALHO, J. F. R. P. Utilização de substratos à base de coco no cultivo de *Dendrobium nobile* Lindl. (Orchidaceae). **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 27, n. 2, p. 255-260, 2005.
- ASSIS, A. M.; FARIA, R. T.; UNEMOTO, L. K.; COLOMBO, L. A. Cultivo de *Oncidium baueri* Lindley (Orchidaceae) em substratos a base de coco. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 1, p. 981-985, 2008.
- BARROS, F. DE; Orchidaceae in Flora do Brasil 2020 (em construção). **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB179>. Acesso em: 13 mai. 2020.
- BECKMANN-CAVALCANTE, M. Z.; AMARAL, G. C.; SILVA, A. A.; CAVALCANTE, I. H. I.; LIMA, M. P. D. Alternative substrates for production of *Heliconia psittacorum* L. seedlings under shade and open field conditions. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 88, p. 15272-15277, 2011.
- BRITO, L. P. S.; BECKMANN-CAVALCANTE, M. Z.; AMARAL, G. C.; SILVA, A. A.; AVELINO, R. C. Reutilização de resíduos regionais como substratos na produção de mudas de cultivares de alface a partir de sementes com e sem peletização. **Revista de la Facultad De Agronomía (La Plata)**, v. 116, n. 1, p. 51-61, 2017.
- CALVETE, E. O.; KÄMPF, A. N.; SUZIN, M. Concentração de sacarose no enraizamento *in vitro* de morangueiro. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 2, p. 186-191, 2002.
- CARDOSO, J. C. Levantamento de espécies da família Orchidaceae em Botucatu: potencial ornamental e cultivo. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 7-13, 2014.
- CAVALCANTE, I. H. L.; ROCHA, L. F.; SILVA JUNIOR, G. B.; FALCÃO NETO, R.; SILVA, R. R. S. Seedling production of gurguéia nut (*Dypterix lacunifera* Ducke), seed germination and suitable substrates for seedlings. **International Journal of Plant Production**, v. 5, n. 4, p. 319-322, 2011.
- CHANDRA, S.; BANDOPADHYAY, R.; KUMAR, V.; CHANDRA, R. Acclimatization of tissue cultured plantlets: from laboratory to land. **Biotechnology Letters**, v. 32, n. 1, p. 1199-1205, 2010.
- COLOMBO, L. A.; FARIA, R. T.; ASSIS, A. M.; FONSECA, I. C. B. Aclimatização de um híbrido de *Cattleya* em substratos de origem vegetal sob dois sistemas de irrigação. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 27, n. 1, p. 145-150, 2005.

DEB, C.; IMCHEN, T. An efficient *in vitro* hardening technique of tissue culture raised plants. **Biotechnology**, v. 9, n. 1, p.79-83, 2010.

ENFLOR; **Mercado brasileiro de flores e plantas ornamentais segue na contramão da crise**. In: Encontro Nacional de Floristas, Produtores, Atacadistas e Empresa de Acessórios; Holambra, Release econômico, 2019.

FAJARDO, C.G.; VIEIRA, F.A.; FELIX, L.P. & MOLINA, W.F. 2017. Negligence in the Atlantic forest, northern Brazil: a case study of an endangered orchid. **Biodiversity and Conservation**, v. 26, n. 5, p. 1047-1063, 2017.

FARIA, R. T.; ASSIS, A. M. A.; FIÚZA, J. R. P. C. **Cultivo de orquídeas**. Londrina: Mecenas, 2010. 2008 p.

FARIA, R. T.; ASSIS, A. M.; UNEMOTO, L. K.; CARVALHO, J. F. R. P. **Produção de Orquídeas em Laboratório**. Londrina: Mecenas, 2012. 124 p.

FARIA, R. T.; STEGANI, V.; BERTONCELLI, D. J.; ALVES, G. A. C.; ASSIS, A. M. Substrates for the cultivation of epiphytic orchids. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 6, p. 2851, 2018.

FARIAS, W. C.; OLIVEIRA, L. L. P.; OLIVEIRA, T. A.; DANDAS, L. L. G. R.; SILVA, T. A. G. Caracterização física de substratos alternativos para produção de mudas. **Revista Agropecuária Científica no Semiárido**. v. 8, n. 3, p. 01-06, 2012.

FAY, F.; HOREL, G.; LINOSSIER, I.; VALLÉE-RÉHEL, K. Effect of biocidal coatings on microfouling. *In vitro* and *in situ* results. **Progress in Organic Coatings**, v. 114, p. 162-172, 2018.

FIETZ, C. R.; FISCH, G. F.; COMUNELLO, E.; FLUMIGNAN, D. L. **O clima da região de Dourados, MS**. (3. ed.). Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2017. 31 p.

GALE, S.W.; FISCHER, G.A.; CRIBB, P.J.; FAY, M.F. Orchid conservation: bridging the gap between science and practice. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 186, n. 4, p. 425-434, 2018.

HANUS-FAJERSKA, E.; WOJCIECHOWSKA, R. (2017) Impact of Light-Emitting Diodes (LEDs) on propagation of orchids in tissue culture. **In: Light Emitting Diodes for Agriculture**, 2017. 305-320 p.

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

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M.S. Brazilian consumption of flowers and ornamental plants: habits, practices and trends. **Ornamental Horticulture**, v. 23, n. 2, p. 178-184, 2017.

- JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M.S. Sustainability in Brazilian floriculture: introductory notes to a systemic approach. **Ornamental Horticulture**, v. 24, n. 2, p. 155-162, 2018.
- LEMES, C. S. R. **Germinação, desenvolvimento e aclimatização de *Miltonia flavescens* Lindl. (Orchidaceae)**. 2015. 55p. Tese de Doutorado em Produção Vegetal - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS.
- LIMA, B. V.; SANTOS, A. F.; FERNANDES, A. DE F.; FUGA, C. A. G.; BARRETO, R. W.; SILVA, R. V. Novas opções de substratos para o cultivo de *Cyrtopodium cardiochilum* (Orchidaceae). **Colloquium Agrariae**, v. 15, n. 4, p. 100-106, 2019.
- 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 Scientiarum Agronomy**, v. 30, n. 4, p. 465-469, 2008.
- MACEDO, M. C.; ROSA, D. B. C. J.; SOARES, J. S.; TATARA, M. B.; HOFMMANN, N. T. K.; ROSA, Y. B. C. J. Armazenamento de sementes e aclimatização de *Brassavola tuberculata* Hook. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 2883-2894, 2014.
- MENGARDA, L. H. G.; COLA, G. P. A.; DE OLIVEIRA, S. C. & DE FREITAS, A. R. Multiplication, rooting *in vitro*, and acclimatization of *Brassavola tuberculata* Hook. (Orchidaceae), an orchid endemic to the brazilian Atlantic Rainforest. **Bioscience Journal**, v. 33, n. 3, 2017.
- MOURA, R.; ALVES, A.; RIBEIRO, A.; SOARES, J.; GIL, J. Emergência e crescimento inicial de mudas de cultivares de alface em diferentes substratos. **Revista Verde**, v. 9, n. 4, p. 255 - 261, 2014.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiology Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- PANSARIN, E. R.; AGUIAR, J. M. R. B. V. & FERREIRA, A. W. C. A new species of *Vanilla* (Orchidaceae: Vanilloideae) from São Paulo, Brazil. **Brittonia**, v. 64, p. 157-161, 2012.
- PASQUAL, M. **Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações: meios de cultura**. Lavras, 2001. 74p.
- RECH, A. R.; ROSA, Y. B. C. J.; MANENTEBALESTIERI, F. C. L. Aspects of the reproductive biology of *Brassavola cebolleta* (Orchidaceae). **Acta Scientiarum**, v. 32, p. 335-341, 2010.
- SILVA, A. L. L.; FRANCO, E. T. H.; HORBACH, A. M.; WALTER, J. M. Aclimatização de Mudas de *Cattleya tigrina* A. Rich. Ex Beer (Orchidaceae) em Sistema Hidropônico. **Caderno de Pesquisa, Série Biologia**, v. 18, n. 1, p. 129-139, 2006.
- SILVA, R. R. S. **Substratos e boro para produção de mudas de maracujazeiro amarelo**. 2012. 52p. Dissertação de Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas – Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus.

SILVA, T.D.S.; FELIX, L.P.; MELO, J.I.M.D. Bromeliaceae and Orchidaceae on rocky outcrops in the Agreste Mesoregion of the Paraíba State, Brazil. **Hoehnea**, v. 42, n. 2, p. 345-365, 2015.

SOARES, J. S., **Técnicas de cultivo *in vitro* como alternativa para a conservação de *Schomburgkia crispa* Lindl. (Orchidaceae) e sua reintrodução em ambiente natural.** 2018. 101p. Tese de Doutorado em Recursos Naturais) – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul. Dourados, Dourados – MS.

SORGATO, J. C; SOARES, J. S; ROSA, D. B. C. J.; LEME, C. S. R. L.; PEREIRA, S. T. S. e REZENDE, L. S. de R. Imersão em solução nutritiva e ácido giberélico promovem a aclimatização intermediária de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Sure. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 13, n. 3, p. 176-180, 2015.

SOUSA, W. C.; BRITO, D. R. S.; AMARAL, F. H. C.; NÓBREGA, R. S. A. N.; NÓBREGA, J. C. A. Caracterização química de substratos compostos de pau de buriti para cultivo de mudas de espécies arbóreas. **In: VII ENSub**, 2010. p. 14-18.

SOUZA, N. F. S.; VIANA, D. S. F. Aspectos ecológicos e potencial econômico do buriti (*Mauritia flexuosa*). **Agrarian Academy**, v. 5, n. 9; p. 549, 2018.

VASCONCELOS, T. C.; JÚNIOR, C. F. S.; NUNES, A. Substratos amazônicos para germinação e produção de mudas de alface. **Enciclopédia Biosfera**, v. 15 n. 28, 2018.

VILLA, F.; PEREIRA, A. R.; PASQUAL, M.; ARAÚJO, A. G. Influência de substratos alternativos na aclimatização de orquídeas. **Revista Ceres**, v. 54, n. 316, p.501-505, 2007.

ZANDONÁ, A. P.; FARIA, R. T.; LONE, A. B.; HOSHINO, R. T. Alternative substrates to the sphagnum moss in the acclimatization of *Arundina graminifolia* “alba” (Orchidaceae). **Ornamental Horticulture**, v. 20, n. 1, p. 7-12, 2014.

CAPÍTULO III - *Brassavola tuberculata* HOOK.: POTENCIAL ORNAMENTAL E REINTRODUÇÃO

RESUMO

O estudo foi realizado para descrever os aspectos morfológicos de *B. tuberculata*, visando avaliar seu potencial ornamental e a sua reintrodução em ambiente natural para o uso no paisagismo. Para atingir o objetivo proposto, este estudo foi dividido em dois experimentos. No experimento I, para avaliar o potencial ornamental foram utilizados três indivíduos que apresentavam botões florais e as características avaliadas foram: número de inflorescência por planta, número de flores por inflorescência, número de folhas, diâmetro da folha, diâmetro da touceira, altura da planta, durabilidade da flor e comprimento da haste floral. As medidas das flores foram obtidas no eixo horizontal e vertical, e foi mensurado o comprimento do labelo. No experimento II, para a reintrodução, foram utilizados 20 indivíduos com cerca de 10 cm de altura, fixados com malha sintética de náilon em cinco forófitos de Jatobá. Foi utilizado como substrato uma mistura de paú de buriti e chips de coco (1:1, v/v). As plantas foram submetidas a dois tratamentos: metade recebeu 12 g de adubo de liberação controlada (NPK 15-15-15) e a outra metade não recebeu tratamento com adubação. No dia da reintrodução (dia zero) e aos sete, 14, 21 e 30 dias após a reintrodução, foi avaliada a sobrevivência semanalmente e, após esse período, mensalmente até completar seis meses, ainda foi realizada uma nova avaliação aos 360 dias após a reintrodução. As plantas também foram avaliadas quanto ao ajuste no forófito, uma vez ao mês, totalizando seis meses e após seis meses, totalizando um ano. As variáveis avaliadas foram comprimento da folha (CF) e diâmetro da folha (DF). Aos 360 dias após a reintrodução, as malhas de náilon foram retiradas para avaliação do sistema radicular das plantas. As características mensuradas foram número de raízes, comprimento e diâmetro da maior raiz. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, arranjado em parcela subdividida, sendo nas parcelas os dois tratamentos de adubação e nas subparcelas os sete períodos de avaliação, com dez repetições de uma planta cada. Ao final do período experimental a sobrevivência foi de 50% no tratamento com adubação e de 80% sem adubação. Para as demais características houve efeito isolado do tempo de avaliação para DF, com 2,3 mm aos 360 dias de reintrodução, e da interação entre tempo e adubação para CF, apresentando 116,45 mm, para o tratamento com adubação, também ao final do período experimental. Com os resultados obtidos nos dois experimentos, verificou-se que os aspectos morfológicos de *B. tuberculata* atribuem à espécie potencial ornamental e seu uso no paisagismo e a reintrodução é recomendada sem a utilização de adubo.

Palavras-chave: Orchidaceae; Planta nativa; Paisagismo

ABSTRACT

The study was carried out to describe the morphological aspects of *B. tuberculata*, aiming to evaluate its ornamental potential and its reintroduction in a natural environment for use in landscaping. To achieve the proposed objective, this study was divided into two experiments. In experiment I, to evaluate the ornamental potential, three individuals with flower buds were used and the evaluated characteristics were: number of inflorescences per plant, number of flowers per inflorescence, number of leaves, leaf diameter, clump diameter, plant height, flower durability and floral stem length. The measurements of the flowers were obtained on the horizontal and vertical axis, and the length of the lip was measured. In experiment II, for reintroduction, 20 individuals of about 10 cm in height were used, fixed with synthetic nylon mesh in five phorophytes from Jatobá. A mixture paú de buriti and coconut chips (1: 1, v / v) was used as substrate. The plants were subjected to two treatments: half received 12 g of controlled release fertilizer (NPK 15-15-15) and the other half did not receive treatment with fertilization. On the day of reintroduction (day zero) and at seven, 14, 21 and 30 days after reintroduction, survival was assessed weekly and, after that period, monthly until completing six months, a further evaluation was carried out at 360 days after reintroduction. The plants were also evaluated for adjustment in the phorophyte, once a month, totaling six months and after six months, totaling one year. The variables evaluated were leaf length (LL) and leaf diameter (LD). At 360 days after reintroduction, the nylon meshes were removed to evaluate the root system of the plants. The characteristics measured were number of roots, length and diameter of the largest root. A completely randomized experimental design was used, arranged in a subdivided plot, with the two fertilization treatments in the plots and in the subplots the seven evaluation periods, with ten replications of one plant each. At the end of the experimental period, survival was 50% in the treatment with fertilization and 80% without fertilization. For the other characteristics, there was an isolated effect of the evaluation time for LD, with 2.3 mm at 360 days of reintroduction, and of the interaction between time and fertilization for LL, presenting 116.45 mm, for the treatment with fertilization, also at the end of the trial period. With the results obtained in both experiments, it was found that the morphological aspects of *B. tuberculata* attribute to the potential ornamental species and its use in landscaping and reintroduction is recommended without the use of fertilizer.

Keywords: Orchidaceae; Native plant; Landscaping

1. INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae é a segunda maior família de plantas com flores, constituída de aproximadamente 899 gêneros e 27.801 espécies com nomes aceitos (THE PLANT LIST, 2020). O bioma Cerrado é composto por 670 espécies de orquídeas distribuídas em 114 gêneros, e no Mato Grosso do Sul são encontradas 90 espécies e 41 gêneros (BARROS et al., 2020).

Esse grupo tem distribuição cosmopolita, embora não homogênea, com maior abundância de espécies nas regiões tropicais e subtropicais, comumente apresentando porte herbáceo. De acordo com o habitat podem ser, aquáticas, saprófitas, rupícolas, terrícolas, mas em sua maioria são epífitas (BARROS et al., 2020).

Dentro das orquidáceas, o gênero *Brassavola* é encontrado ao longo do continente latino americano, desde o México até a Argentina e devido ao seu elevado valor florístico e rusticidade é amplamente utilizado na produção de híbridos duplos e triplos com *Cattleya*, *Laelia*, *Sophranitis* e *Epidendrum* (BELLONE, 2006; SOARES et al., 2012; SOUSA et al., 2015). A espécie *Brassavola tuberculata* Hook. é nativa de vários estados do Brasil, incluindo o Mato Grosso do Sul (RECH et al., 2011; BARROS et al., 2018). É uma planta facilmente reconhecida pelas folhas de coloração verde, cilíndricas e sulcadas ao longo de todo o seu comprimento e por possuir sistema radicular aéreo e volumoso. Sua inflorescência terminal e simples, apresenta pedúnculo verde com máculas roxas. As flores são pediceladas longas, com pétalas e sépalas branco-amareladas, filiformes, labelo arredondado com uma mancha amarela central, exalando odor levemente adocicado (RECH et al., 2010; SILVA et al. 2015).

Dentre as plantas ornamentais cultivadas, a produção de orquídeas é uma atividade em crescente expansão tanto no mercado nacional quanto no internacional, tornando-se evidente a necessidade de informações que permitam a otimização do seu cultivo (LORENZI e SOUZA, 2001; JUNQUEIRA e PEETZ, 2017). Para a comercialização dessas plantas, os caracteres ornamentais mais utilizados são: o tamanho da inflorescência; tamanho, número, coloração e durabilidade das flores; além da indicação para uso na produção de flores de corte, vaso e como folhagem. (HUNHOFF et al., 2016)

No paisagismo, o uso de espécies nativas da flora do Brasil tem ganhado espaço, podendo substituir espécies exóticas, por conta da praticidade e sustentabilidade envolvida. A utilização de plantas nativas em projetos paisagísticos busca integrar o ambiente com compromisso de preservação ecológica, dentre suas vantagens destaca-se

a redução dos custos na implantação e manutenção do jardim, a redução da utilização de água, fertilizantes e produtos químicos, além da valorização da identidade regional, servindo como abrigo para uma numerosa fauna e flora, redução da introdução de novos patógenos e baixo impacto ambiental (ZILLER, 2001; FARIA, 2018; ZUCCHI et al., 2019).

Estudos sobre a inserção de espécies nativas no paisagismo se fazem necessários, uma vez que, esse material deve ser aproveitado economicamente sem prejudicar a variabilidade genética e ocasionar perdas de espécies com alto potencial ornamental, além de ser uma oportunidade de crescimento e autossuficiência brasileira na produção de cultivares e mudas (CARDOSO et al., 2014). Por meio de um planejamento adequado, utilizando a flora mais adaptável à região, é possível incluir e preservar espécies nativas por meio de projetos de paisagismo, visando a sua manutenção no conjunto do ecossistema e dos indivíduos representativos da vegetação nativa local, trazendo o fortalecimento de identidades regionais e a construção das cadeias produtivas dos agricultores e comunidades locais (CORADIN e SIMINSKI, 2011; FARIA, 2018).

Além disso, para a família Orchidaceae, tratos culturais relacionados às diferentes espécies podem variar de acordo com a forma de vida e o local geográfico no qual as plantas são cultivadas. Desta maneira, um desafio para a inserção dessas plantas no paisagismo é entender a fisiologia de cada espécie, bem como adaptações e estratégias para aquisição e utilização de nutrientes em diferentes condições de cultivo (ZHANG et al., 2018).

Ainda, há pouca informação sobre os ajustes morfofisiológicos de orquídeas germinadas assimbioticamente e cultivadas *in vitro* quando inseridas em áreas verdes. Assim, conhecer os requerimentos nutricionais e de substratos é importante para definição de protocolos de inserção e cultivo dessas plantas em forófitos. Diante disso, o objetivo deste estudo foi descrever os aspectos morfológicos de *B. tuberculata* Hook., visando avaliar seu potencial ornamental e a sua reintrodução em ambiente natural para o uso no paisagismo

2. MATERIAL E MÉTODOS

Potencial Ornamental

Este estudo foi realizado em plantas de *Brassavola tuberculata* Hook. com cinco anos, obtidas a partir do cultivo *in vitro* e alocadas em viveiro telado coberto pela sobreposição de duas telas de sombreamento de 50% (PAR= 235,1 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) localizado no orquidário da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (FCA/UFGD) (22°11'53.2"S; 54°56'02.3"W), no mês de agosto de 2018 e julho de 2019.

O clima da região de acordo com a classificação climática de Köppen é Cwa (clima mesotérmico úmido, verões quentes e invernos secos) com precipitação total anual entre 1.250 e 1.500 mm, registrando os maiores valores de temperatura nos meses de dezembro e janeiro, enquanto as menores temperaturas ocorrem nos meses de julho e junho (FIETZ et al., 2017).

Para a avaliação do potencial ornamental da espécie, foram utilizados três indivíduos que apresentaram botões florais, dos quais os caracteres quantitativos foram avaliados, totalizando três plantas e cinco flores.

As características avaliadas foram: número de inflorescência por planta, número de flores por inflorescência, número de folhas, diâmetro da folha (cm), diâmetro da touceira (cm). A altura da planta (cm) foi obtida desde a base da folha/pseudobulbo até o ápice da lâmina foliar. A durabilidade da flor (dias) foi registrada enquanto permanecia na planta. O comprimento da haste floral (cm) foi obtido em inflorescências totalmente desenvolvidas e em plena floração. As medidas das flores foram obtidas no eixo horizontal e vertical, e também foi mensurado o comprimento do labelo (cm). Todas as medidas foram obtidas com a utilização de um paquímetro digital.

As flores foram acompanhadas desde a antese até a senescência. Ao final do período experimental foram calculadas as médias e o desvio padrão para cada um dos caracteres avaliados.

Reintrodução

Para o estudo, foram utilizadas plantas de *Brassavola tuberculata* Hook. obtidas a partir de germinação assimbiótica de sementes oriundas de matrizes do orquidário da

FCA/UFGD e aclimatizadas durante 12 meses, em viveiro telado coberto pela sobreposição de duas telas de sombreamento de 50% ($\text{PAR} = 235,1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Plantas de *B. tuberculata* foram reintroduzidas, em março de 2019, na área da FCA/UFGD, em Dourados – MS ($22^{\circ}11'48.3''\text{S } 54^{\circ}56'03.1''\text{W}$) (Figura 1). Para reintrodução, foram escolhidos, aleatoriamente, 20 indivíduos com cerca de 10 cm de altura. Em seguida, foram fixados em cinco forófitos de Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) com malha sintética de náilon, na altura de aproximadamente 3 m do solo, na face leste do caule, de forma que a incidência de luz sobre as plantas não fosse direta nos períodos mais quentes do dia. Foi utilizado como substrato uma mistura de paú de buriti e chips de coco (Amafibra[®]) (1:1, v/v).



FIGURA 1. Cidade universitária de Dourados. Em destaque a área de reintrodução de *Brassavola tuberculata* Hook. na Universidade Federal da Grande Dourados. Imagem: Google Earth, 2020. UFGD, Dourados-MS, 2020.

Após a reintrodução, as plantas foram submetidas a dois tratamentos: metade recebeu 12 g de adubo de liberação controlada (NPK 15-15-15), alocado em trouxinha feita com malha sintética de náilon e fixada no forófito logo acima do indivíduo; e a outra metade não recebeu tratamento com adubação. Cada forófito recebeu de três a cinco indivíduos, de tratamentos distintos, sendo identificado por foto, para posterior monitoramento (Figura 2).



FIGURA 2. Plantas de *Brassavola tuberculata* Hook 180 dias após a reintrodução em ambiente natural. A - com adubo, B - sem substrato; C - com adubo, D - sem substrato e após 360 dias da reintrodução em ambiente natural. UFGD, Dourados-MS, 2020.

No momento da reintrodução, também foram coletadas amostras das cascas de cada forófito e em seguida colocadas na estufa por 24 horas a 60 °C. Após este período, as amostras foram trituradas e padronizadas quanto a massa (0,320 g), sendo imersas em 50 mL de água destilada para aferição do seu potencial hidrogeniônico (pH), que foi realizada nos intervalos de 0, 4, 24, 48 e 72 horas, com o auxílio de um peagâmetro de bancada. A partir dos valores observados foram obtidos as médias e os desvios padrão para esse parâmetro.

No dia da reintrodução (dia zero) e aos sete, 14, 21 e 30 dias após a reintrodução, foi avaliada a sobrevivência (presença ou ausência da parte aérea, uma vez que o rizoma e sistema radicular estavam cobertos com a malha sintética de náilon), semanalmente e, após esse período, mensalmente até completar seis meses, ainda foi realizada uma nova avaliação aos 360 dias após a reintrodução.

As plantas também foram avaliadas quanto ao ajuste no forófito de reintrodução, uma vez ao mês, totalizando seis meses e após seis meses, totalizando um ano. As variáveis avaliadas foram comprimento (cm) da folha (CF) e diâmetro (cm) da folha (DF). Aos 360 dias após a reintrodução, as malhas de náilon foram retiradas para avaliação do sistema radicular das plantas. Os parâmetros mensurados foram número de raízes (NR), comprimento (cm) (CR) e diâmetro (cm) da maior raiz (DR). Todas as medidas foram obtidas com a utilização de um paquímetro digital.

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, arranjado em parcela subdividida, sendo nas parcelas os dois tratamentos de adubação e nas subparcelas os sete períodos de avaliação, com dez repetições de uma planta cada. As variáveis foram avaliadas mediante análise de variância e quando significativas (teste F, $p < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste Tukey até o nível de 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Potencial Ornamental

Em relação aos aspectos morfológicos, as plantas de *Brassavola tuberculata* apresentaram em média altura de 17,67 cm e diâmetro da touceira de 26,00 cm. Cada indivíduo apresentou cerca de 18 folhas com diâmetro em torno de $2,23 \pm 0,12$ mm (Quadro 1).

QUADRO 1. Características morfológicas de *Brassavola tuberculata* Hook. Valores médios (VM) e desvio padrão (DP). UFGD, Dourados-MS, 2020.

CARACTERÍSTICAS	(VM ± DP)
Altura da planta (pseudobulbos + folha) (cm)	17,67 ± 2,89
Diâmetro da touceira (cm)	26,00 ± 0,87
Número de folhas	18,00 ± 1,73
Diâmetro da folha (cm)	2,23 ± 0,12

Os valores de altura da planta corroboram com Azevedo e Van Den Berg (2007); Cunha e Forzza (2007) e Silva et al. (2015) que, ao descrever a espécie relatam que esta apresenta altura de planta variando entre 12 e 30 cm. Os autores descrevem folhas cilíndricas, viscosas, ranhuradas ao longo de todo o seu comprimento, ápice agudo e cor

verde arroxeada, entretanto, com diâmetro de 4 a 6 mm de espessura, enquanto que nesse trabalho o diâmetro foi inferior (2,23 cm).

Embora não tenham estudado as características ornamentais de *B. Tuberculata*, MOREIRA et al. (2014) relatam, que entre as espécies nativas encontradas em seu levantamento botânico no estado do Rio de Janeiro, a espécie está no grupo das que possuem elevado valor ornamental. Ainda, em projetos paisagísticos é essencial conhecer o habitat da espécie a ser utilizada. Segundo Brustulin e Shimitt (2008) e OSTETTO (2015), *B. tuberculata* é uma espécie que prefere ou tolera ambientes mais sombreados.

Quanto aos caracteres florais, a espécie, de modo geral, apresentou 1,67 inflorescências, em racemo terminal, por planta, com haste floral simples e verde, medindo 13,00 cm de comprimento. Cada haste apresentou, em média, 1,33 flores, medindo 6,10 cm de diâmetro transversal e 5,67 cm de diâmetro longitudinal. As flores apresentaram pétalas brancas levemente amareladas, lanceoladas e com ápice agudo. Foi observado labelo com 2,17 cm de comprimento, articulado ao pé da coluna, branco com região central amarelada e margens ligeiramente onduladas (Figura 3) (Quadro 2).

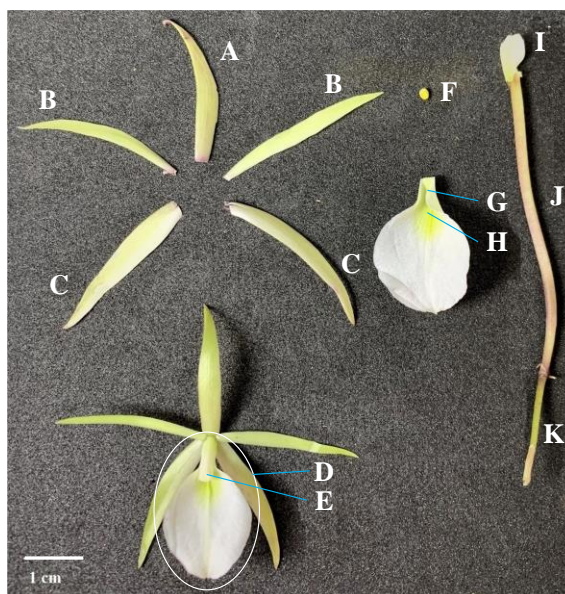


FIGURA 3: Ficha de diagnose floral elaborada a partir de imagens de flores frescas de *Brassavola tuberculata* Hook. A= sépala dorsal; B= pétalas laterais; C= sépalas laterais; D= labelo (pétala mediana); E= antera; F= políneas; G= opérculo; H e I= coluna; J= ovário; K= pedúnculo. Foto: José Carlos Sorgato, 2020. UFGD, Dourados-MS, 2020.

QUADRO 2. Valores médios de características de florescimento de *Brassavola tuberculata* Hook. Valores médios (VM) e desvio padrão (DP). UFGD, Dourados-MS, 2020.

CARACTERÍSTICAS	(VM ± DP)
Número de inflorescência/planta	1,67 ± 0,58
Comprimento da haste floral (cm)	13,00 ± 1,32
Número de flores/inflorescência	1,33 ± 0,58
Durabilidade da flor (dias)	16,67 ± 0,58
Diâmetro transversal da flor (cm)	6,10 ± 0,96
Diâmetro longitudinal da flor (cm)	5,67 ± 0,76
Comprimento labelo (cm)	2,17 ± 0,29

Rech et al. (2010) descrevem em seu trabalho que as plantas dessa espécie produzem inflorescências contendo cinco a sete flores, de coloração branca levemente amarela, que exalam odor adocicado ao anoitecer. Ainda, devido à sua coloração, número e/ou tamanho de suas flores, Barberena et al. (2019) citam que, entre as espécies encontradas em seu levantamento botânico na APA Abaeté, *B. tuberculata* é uma orquídea altamente ornamental.

As características morfológicas de *B. tuberculata* aliadas ao conhecimento de seu habitat sugerem que essas plantas podem ser utilizadas no paisagismo, tanto ornamentando troncos de árvores, como sendo utilizadas em jardins verticais, pois, além da preferência por espécies epífitas nesse estilo de projeto, a espécie ainda apresenta raízes aéreas que crescem simbioticamente sobre outras plantas e superfícies sem necessitar de grande manutenção.

A durabilidade das flores desta orquídea foi de aproximadamente 16 dias (Quadro 2). O período de floração de *B. tuberculata* no ano de 2018 foi iniciado na última quinzena de agosto e finalizado no último dia do mesmo mês, enquanto que em 2019 teve início na última quinzena de julho e foi finalizado no começo de agosto, dentro da época esperada (CUNHA e FORZZA, 2007). O período de floração dessa planta também corrobora com RECH et al. (2010), que relata que o potencial ornamental da espécie está associado a sua florada abundante e duradoura, que se estende de junho até setembro, com o pico de floração em agosto.

Leal e Biondi (2006) ao estudarem 25 espécies nativas de plantas quanto ao seu potencial ornamental verificaram que apenas uma espécie (*Aspilia setosa*) apresentou florescimento durante o inverno. Durante os dois anos em que as plantas de *B. tuberculata* foram avaliadas, o florescimento ocorreu durante o inverno, atribuindo a essa espécie a

vantagem na ornamentação de um jardim, trazendo a beleza de suas flores em épocas onde o florescimento das demais espécies é minimizado.

O uso de espécies nativas é um diferencial nos projetos modernos de paisagismo e tem sido muito utilizado, principalmente, para redução do uso de espécies exóticas. As plantas nativas são mais bem adaptadas, diminuindo os custos de implantação e manutenção dos projetos (HEIDEN, et al., 2006; TURCHETTI, 2016), além de ser uma estratégia primordial da conservação *ex situ* dessas espécies.

Assim, características como altura de planta, tamanho da inflorescência, número de flores e sua durabilidade são essenciais para definir o manejo e o potencial ornamental das plantas nativas, principalmente de Orchidaceae (HUNHOFF et al., 2016). Além disso, na escolha das plantas que serão usadas em projetos de paisagismo, algumas características devem ser consideradas, tais como, cores, volumes, texturas, formas e perfumes. A disposição das folhas de *B. tuberculata* na touceira, projetadas para frente de maneira elegantemente desordenada, bem como a delicadeza e perfume de suas flores, atribuem à planta um diferencial em seu uso como ornamental (Figura 4).



FIGURA 4. Aspectos gerais de *Brassavola tuberculata* Hook. Ilustração Botânica. Autor: Isabella Ribeiro. UFGD, Dourados-MS, 2020.

Reintrodução

Em geral, pouco se sabe sobre o uso correto de adubos e fertilizantes balanceados para o desenvolvimento de plantas nativas (EMER et al., 2020). Aos 180 dias após a reintrodução de *B. tuberculata*, as plantas que receberam adubo de liberação controlada apresentaram em geral sobrevivência de 60% e, aos 360 dias 50% de sobrevivência. Enquanto que as plantas do tratamento sem adubo apresentaram 70% de sobrevivência aos 180 dias e 80% aos 360 dias, devido a rebrota de uma planta que havia perdido toda a parte aérea, demonstrando que a adubação não contribuiu no estabelecimento dessa espécie nessas condições.

Foi possível verificar que, em ambos os tratamentos, a maior variação da sobrevivência ocorreu durante os primeiros 30 dias de reintrodução, apresentando-se estável dos 60 aos 150 dias (Figura 5). Isto pode indicar que as plantas passaram por estresse no período inicial (0 até 60 dias) até se adaptarem às condições do ambiente natural, conseguindo reorganizar seu metabolismo, que de acordo com Avadhani et al. (1982), é do tipo crassuláceo (CAM).

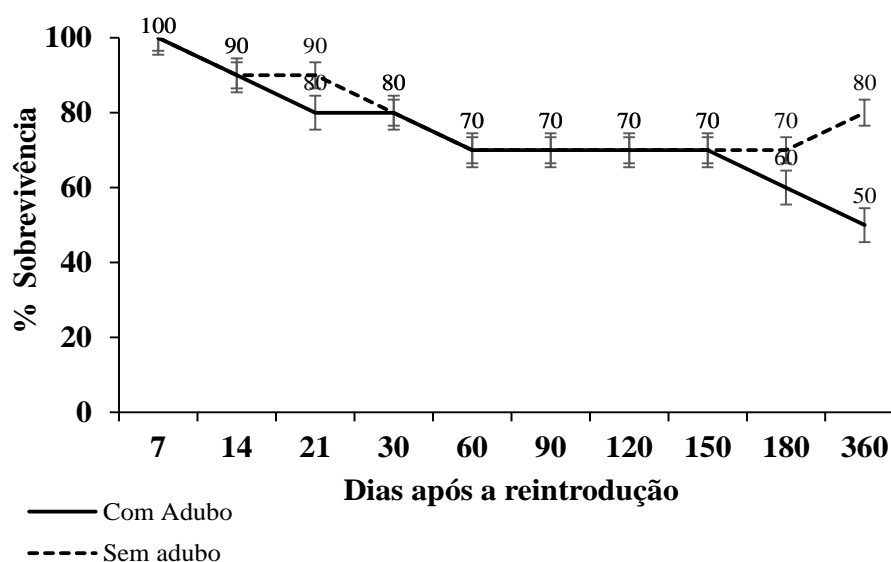


FIGURA 5. Sobrevivência de plantas de *Brassavola tuberculata* Hook em função dos dias após reintrodução, com e sem adubação de liberação controlada. UFGD, Dourados-MS, 2020.

A sobrevivência é baseada no vigor aparente das plantas, e fornece pouca informação sobre o real estado fisiológico dos organismos implantados (SOARES, 2018).

A sobrevivência de orquídeas dessa espécie, ainda que sob condições sub ótimas, pode estar relacionada ao seu metabolismo CAM, caracterizado por se adaptar ao estresse hídrico e a altas temperaturas, apresentando fechamento dos estômatos durante o dia, minimizando a perda de água, e abertura durante a noite para absorção de CO₂ (ZHANG et al., 2018), o que favoreceu sua adaptabilidade a partir dos 60 dias.

Por conta da baixa habilidade das orquídeas de transportarem a água da raiz para as folhas, essas plantas possuem diversos mecanismos para reduzir a perda de água. Algumas orquídeas utilizam seus pseudobulbos para armazenamento de nutrientes e água durante períodos de seca (ZHANG et al., 2018). Entretanto, plantas de *B. tuberculata* possuem pseudobulbos em menor diâmetro, podendo armazenar menor quantidade de fotoassimilados, característica que pode ter influenciado a sobrevivência no período inicial da reintrodução.

Segundo Brustulin e Shimitt (2008) e OSTETTO (2015), *B. tuberculata* é uma espécie que prefere ou tolera ambientes mais sombreados. Orquídeas epífitas reintroduzidas em ambiente com árvores isoladas estão expostas a um microclima mais intenso, caracterizado por maior incidência luminosa e maiores condições de seca. Dessa maneira, o estabelecimento dessas plantas pode ser limitado quando comparado àquelas que crescem em árvores em uma floresta com dossel fechado (WERNER e GRADSTEIN, 2008; ZHANG et al., 2018).

Além disso, sugere-se que o fato de as plantas terem sido produzidas por meio da semeadura assimiótica e aclimatizadas em ambiente de iluminação controlada pode estar relacionado a dificuldade para se adaptar ao ambiente natural durante os primeiros 60 dias, ocasionando perdas. Plantas cultivadas *in vitro* possuem alterações morfológicas e fisiológicas tais como baixa eficiência radicular, reduzida competência vascular, estômatos pouco ou não funcionais e má formação da cutícula (CHANDRA et al, 2010; SORGATO et al., 2015).

Mesmo assim, a aclimatização prévia em viveiro pode não ser suficiente para eliminar os efeitos do estresse durante a reintrodução, requerendo das mudas ou das plantas novas respostas de ajuste (SOARES et al. 2020). O ajuste compreende a capacidade da planta de se adequar às novas condições ambientais, expressando mudanças de cunho fisiológico e/ou morfológico em resposta ao estresse (LARCHER, 2006).

Embora os valores médios de pH obtidos das cascas dos forófitos tenham apresentado variação de 0,356, sendo o menor valor 5,834 e o maior 6,190 (Quadro 3), não houve relação entre esses valores e a sobrevivência das plantas reintroduzidas.

QUADRO 3. Média dos valores de pH obtidos de cada forófito e o desvio padrão. UFGD, Dourados-MS, 2020.

	F1	F2	F3	F4	F5
Média pH	6,190	6,184	6,082	5,834	6,042
Desvio Padrão	0,184	0,196	0,298	0,164	0,114

A sobrevivência após 180 dias de reintrodução variou entre os forófitos. Os forófitos 1, 2, 3, 4 e 5 apresentaram porcentagem de sobrevivência de 80%, 0%, 100%, 100% e 50%, respectivamente (Figura 6A). Dorneles e Trevelin (2011) ao reintroduzir *C. intermedia*, oriunda de semeadura assimbiótica, verificaram porcentagem geral de sobrevivência de 83% após 180 dias, havendo variação entre os diferentes forófitos da mesma espécie. Comportamento semelhante foi observado em *B. tuberculata* e pode estar relacionado com a incidência de luz que cada forófito recebeu, pH da casca, que mesmo sendo da mesma espécie pode variar, e a presença de insetos cortadores, além de outros animais.

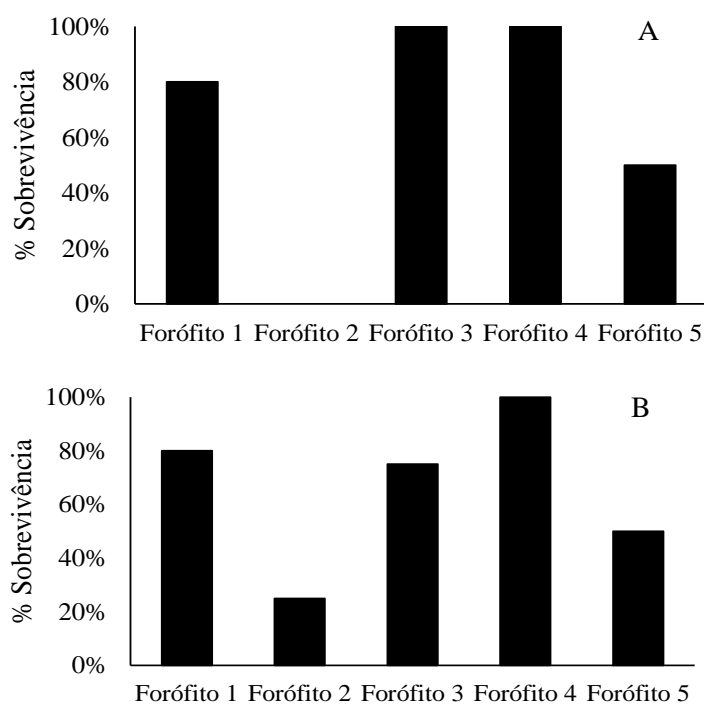


FIGURA 6. Sobrevivência de plantas de *Brassavola tuberculata* Hook. em cada forófito de Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) aos 180 dias (A) e aos 360 dias (B) após a reintrodução. UFGD, Dourados-MS, 2020.

A sobrevivência após 360 dias de reintrodução também variou entre os forófitos. Os forófitos 1, 2, 3, 4 e 5 apresentaram porcentagem de sobrevivência de 80%, 25%, 75%, 100% e 50%, respectivamente (Figura 6B).

A presença de raízes fixadas aos forófitos indicam que, após 180 dias, as plantas de *B. tuberculata* demonstraram bom ajuste do aparelho fotossintético às condições do ambiente de reintrodução. Fatores abióticos como umidade e luminosidade, assim como características físicas dos forófitos podem influenciar no tempo de fixação das raízes de epífitas (BENZING, 1990).

A menor porcentagem de sobrevivência foi observada no forófito 2, onde ao longo do período experimental foi verificada a presença de insetos cortadores. Destaca-se que após 180 dias apenas uma planta fixada nesse forófito apresentou formação de folhas rebrotou, sendo contabilizada como sobrevivente aos 360 dias. Mesmo em estágio juvenil, evidências da retomada da atividade metabólica das plantas puderam ser observadas pelo surgimento de novas folhas em resposta aos ataques de insetos, aos 360 dias após a reintrodução no forófito 2.

Alguns autores, no entanto, relatam que a reintrodução em ambiente de ocorrência natural não assegura a sobrevivência de algumas espécies de Orchidaceae, sendo necessário o estabelecimento da associação simbiótica prévia à reintrodução (AGGARWAL et al., 2012). Porém ao reintroduzir de plantas de *Schomburgkia crispa* Lindl. oriundas de germinação assimbiótica SOARES et al. (2020), observaram 100% de sobrevivência depois de 21 dias de reintrodução, que corrobora com os dados apresentados no presente trabalho que foi de 80% e 90% de sobrevivência considerando todos os tratamentos utilizados.

De maneira geral, *B. tuberculata* apresentou elevada porcentagem de sobrevivência. Ao utilizar o tratamento sem adubação, as plantas produzidas *in vitro* e aclimatizadas, apresentaram sobrevivência de 80% decorridos os 360 dias após a reintrodução, mesmo sem propagação simbiótica, permitindo inferir que este seja o melhor tratamento para a sobrevivências das plantas no forófito.

Quanto às características quantitativas, na análise de variância houve efeito significativo da interação entre os fatores estudados apenas para o comprimento da folha (CF) ($p > 0,05$). Para a variável diâmetro da folha (DF) houve efeito significativo ($p > 0,05$) somente do tempo de avaliação (Quadro 4).

QUADRO 4. Tabela de Análise de Variância das plantas de *Brassavola tuberculata* Hook em função dos dias após a reintrodução e uso de adubo de liberação controlada. UFGD, Dourados-MS, 2020.

Fator de variação	GL	..Quadrado médio..	
		CF	DF
Tempo de avaliação	6	1051,16*	0,71*
Adubo	1	13,58 ^{ns}	0,02 ^{ns}
Tempo de avaliação x Adubo	6	563,74*	0,17 ^{ns}
Erro	78	251,03	0,12
Total	97	60342,20	20,55
Média Geral		100,93	1,95
C.V. (%)		8,16	7,07

* significativo a 5% de probabilidade; ^{ns} não significativo, pelo teste de Tukey. CF= comprimento da folha e DF= diâmetro da folha.

O comprimento das folhas de *B. tuberculata* no tratamento com adubação apresentou valor crescente durante os 30 (86,06 mm), 60 (92,95 mm) e 90 dias (100,64 mm), diminuindo aos 120 dias (95,98 mm) e retomando o crescimento posteriormente, até chegar no maior valor observado de comprimento de folha de 116,45 mm após 360 dias de reintrodução, diferindo estatisticamente dos 30 dias e dos 360 dias sem adubação. Para as plantas sem adubação não houve diferença significativa no comprimento de folhas entre os dias 30 (87,72 mm), 60 (90,00 mm), 90 (106,67 mm), 120 (106,82 mm), 150 (111,25 mm) e 180 (112,00 mm), sendo o menor valor observado aos 360 dias o que pode indicar que as plantas tiveram maior dificuldade de ajuste fotossintético (Quadro 5).

Na perspectiva da reintrodução de orquídeas, devido à cobertura da copa das árvores, forma-se um ambiente heterotrófico, que está relacionado a diferentes condições de luz sob o mesmo forófito, criando micro-habitats. Além disso, a influência dos efeitos das mudanças de estações, é um fator importante para o estabelecimento das espécies dessa família (SOARES et al., 2020). Este fato pode ser comprovado para a característica comprimento de folha, uma vez que o uso da adubação de liberação controlada fez com que as plantas de *B. tuberculata* respondessem melhor às essas condições ambientais heterotróficas.

QUADRO 5: Comprimento da folha das plantas de *Brassavola tuberculata* Hook em função dos dias após reintrodução, com e sem adubo. UFGD, Dourados-MS, 2020.

Comprimento da folha		
Dia	Com adubo	Sem adubo
30	86,06 bA	88,72 Aa
60	92,95 abA	90,00 aA
90	100,64 abA	106,67 aA
120	95,98 abA	106,82 aA
150	108,44 abA	111,25 aA
180	108,65 abA	112,00 aA
360	116,45 aA	88,48 aB
Média Geral	101,31	100,56
C.V. (%)	8,16	

Letras minúsculas comparam os diferentes dias dentro do mesmo tratamento e letras maiúsculas comparam o mesmo dia em tratamentos diferentes. Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey e teste t.

O diâmetro das folhas, de maneira geral, diminuiu ao longo dos 180 dias de reintrodução, retomando seu crescimento e apresentando seu maior valor (2,3 mm) aos 360 dias. Esse resultado pode ser decorrente da queda de temperatura registrada nos meses de junho, julho e agosto (Figura 7), correspondente aos dias 120 (2,1 mm), 150 (1,7 mm) e 180 (1,79 mm), uma vez que, a temperatura considerada ideal para o cultivo de espécies de Orchidaceae seja de 25 °C (MULLER et al., 2007) (Figura 7).

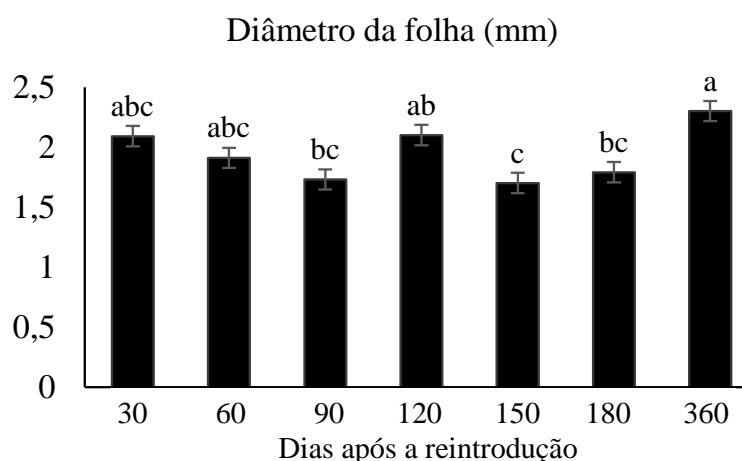


FIGURA 7. Diâmetro da folha (mm) durante o período de reintrodução de *Brassavola tuberculata* Hook. UFGD, Dourados-MS, 2020.

Temperaturas em torno de 25 °C foram observadas em média apenas durante os meses iniciais março, abril e maio, que corresponde aos dias 30, 60 e 90 do período experimental (Figura 8).

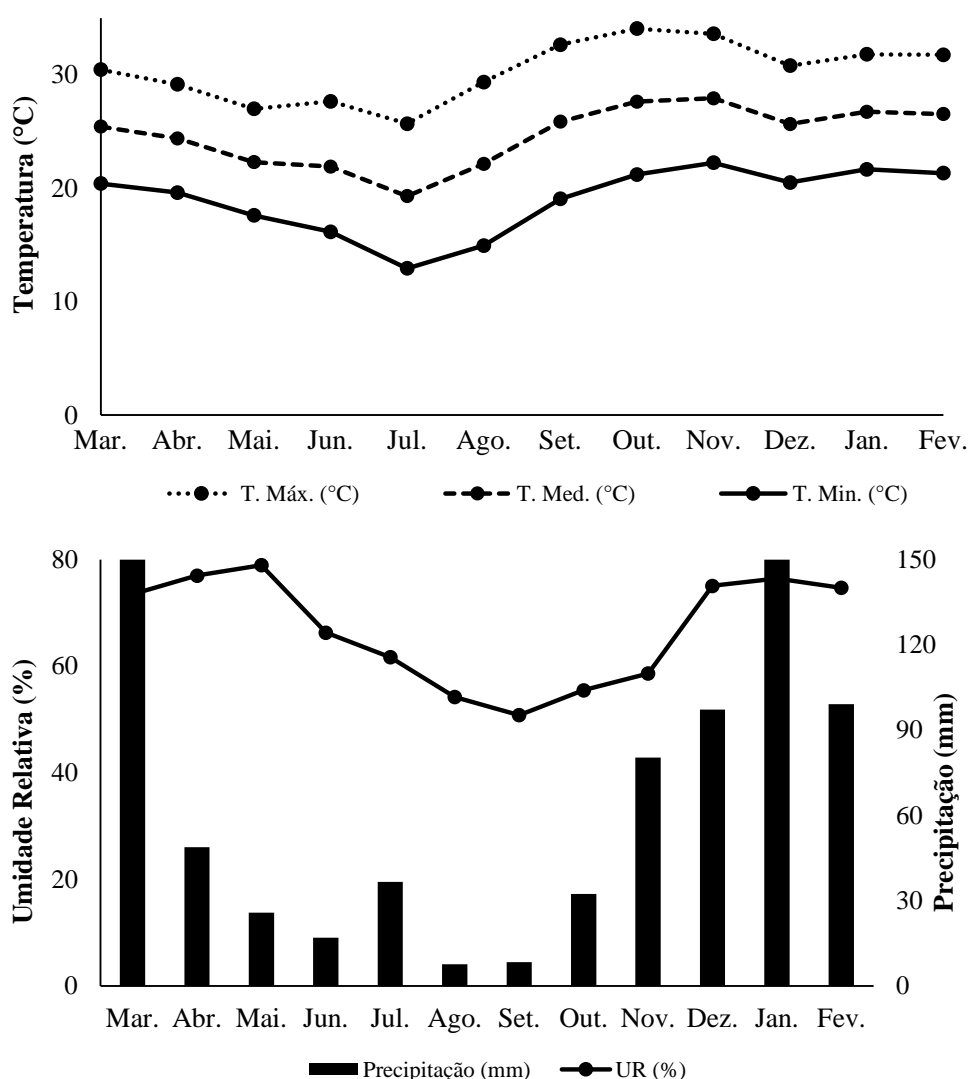


FIGURA 8. Dados climáticos da CEMTEC/MS-Semagro para a cidade de Dourados – MS, entre março de 2019 a fevereiro de 2020, durante a reintrodução de *Brassavola tuberculata* Hook. UFGD, Dourados-MS, 2020.

As características ambientais tais como temperatura, umidade relativa do ar (UR), precipitação e velocidade do vento, assim como a cobertura da copa e captação de água da chuva (ZHANG et al., 2018) podem ter influenciado nas variáveis avaliadas na reintrodução de *B. tuberculata*. As variações térmicas registradas durante o período experimental, como mínima de 12,92 °C e máxima de 31,76 °C, assim como a umidade relativa do ar (UR) e precipitação eram esperadas para cidade de Dourados, onde o verão é quente e úmido e o inverno, frio e seco (Figura 8).

Aos 360 dias da reintrodução foram avaliadas as características do sistema radicular e a análise de variância mostrou que não houve diferença significativa entre os tratamentos para nenhuma das variáveis avaliadas (Quadro 6).

QUADRO 6. Tabela de Análise de Variância para as raízes das plantas de *Brassavola tuberculata* Hook. UFGD, Dourados-MS, 2020.

Fator de variação	GL	..Quadrado médio..		
		CR	DR	NR
Adubo	1	2,337 ^{ns}	0,0445 ^{ns}	12,071 ^{ns}
Erro	6	229,02	0,493	3,238
Total	13	33591,68	2,382	111,5
Média Geral		107,89	2,08	6,5
C.V. (%)		7,69	5,75	11,98

^{ns}: não significativo ($p > 0,05$), pelo teste de Tukey. CR= comprimento da raiz, DR= diâmetro da raiz e NR= número de raiz.

Todas as plantas que sobreviveram durante os 360 dias após a reintrodução apresentavam todas as suas raízes fixadas ao forófito (Figura 9). O fato de as plantas de *B. tuberculata*, ao serem reintroduzidas, já apresentarem raízes estabelecidas no substrato durante a fase de aclimatização, sem que estas fossem danificadas no momento da reintrodução, pode ter contribuído para o crescimento continuado, uma vez que as extremidades de raízes danificadas prejudicariam o estabelecimento dos indivíduos (ENDRES JÚNIOR et al., 2015).



FIGURA 9. Aspectos radiculares de *Brassavola tuberculata* Hook fixadas ao forófito 360 dias após a reintrodução em ambiente natural. UFGD, Dourados-MS, 2020.

Heiden et al. (2006) salientam que para a introdução de novas espécies ornamentais na cadeia produtiva há a necessidade de investimentos em pesquisas e

maneiras de viabilizar a produção. Diante dos resultados apresentados, pode se inferir que *B. tuberculata* apresenta características que permitem seu desenvolvimento frente às limitações do ambiente, como suculência foliar e raízes com velame, as quais conferem às plantas maior resistência à seca (GONÇALVES e WAECHTER 2003; ZHANG et al., 2018).

No Brasil, diversos estudos com espécies nativas e endêmicas para uso no paisagismo têm mostrado resultados positivos que evidenciam perspectivas de novidades para a floricultura nacional (CAVALCANTE et al., 2017). Como não há informações a respeito da expressão máxima do seu potencial ornamental, bem como em quais ambientes paisagísticos essa espécie pode ser utilizada, sugere-se o uso de *B. tuberculata* em touceira, que além de oferecer uma florada mais abundante, cria um microclima favorável para que a planta se desenvolva.

4. CONCLUSÃO

- Os aspectos morfológicos de *B. tuberculata* atribuem a espécie potencial ornamental e seu uso no paisagismo.
- É recomendada a reintrodução de plantas de *B. tuberculata* em ambiente natural sem a utilização de adubo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGGARWAL, S.; NIRMALA, C.; BERI, S.; RASTOGI, S.; ADHOLEYA, A. *In vitro* symbiotic seed germination and molecular characterization of associated endophytic fungi in a commercially important and endangered indian orchid *Vanda coerulea* Griff. Ex Lindl. **European Journal of Environmental Sciences**, v. 2, n. 1, p. 33-42, 2012.

AVADHANI, P. N.; GOH, C. J.; RAO, A. N. e ARDITTI, J. Carbon fixation in orchids. **In: Orchid biology: reviews and perspectives**, 1982. 173–93 p.

AZEVEDO, C. O. e VAN DEN BERG, C. A família Orchidaceae no Parque Municipal de Mucugê, Bahia, Brasil. **Hoehnea**, v. 34, n. 1, p. 1-47, 2007.

BARBERENA, F. F. V. A.; SOUSA, T. S.; ROCHA JUNIOR, J. A. L. Mapping threats to the orchid populations in an environmental protection area in Bahia, northeast Brazil. **Oecologia Australis**, v. 23, n. 2, p.346-356, 2019.

BARROS, F.; HALL, C. F.; PAIVA NETO, V. B.; BATISTA, J. A. N. Checklist das Orchidaceae do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. **Iheringia Série Botânica**, v. 73, p. 287-296, 2018.

BARROS, F. DE; Orchidaceae in Flora do Brasil 2020 (em construção). **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB179>. Acesso em: 13 mai. 2020.

BELLONE, R. **Orquídeas: Guía del aficionado**. Ediciones Omega. Barcelona. 2006. 544p.

BENZING, D. H. **Vascular epiphytes**. Cambridge University Press, Cambridge. 1990. 354p.

BRUSTULIN, J. SCHMITT, J. L. Composição florística, distribuição vertical e floração de orquídeas epifíticas em três parques municipais do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Pesquisas, Botânica, Leopoldo**. v. 59, p. 143-158, 2008.

CARDOSO, J. C. Levantamento de espécies da família Orchidaceae em Botucatu: potencial ornamental e cultivo. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 07-13, 2014.

CAVALCANTE, B. M. Z.; DULTRA, D. F. S.; SILVA, H. L. C.; COTTING, J. C.; SILVA, S. D. P.; SIQUEIRA FILHO, J. A. Potencial ornamental de espécies do Bioma Caatinga. **Comunicata Scientiae**, v. 8, n. 1, p. 43-58, 2017.

CHANDRA, S.; BANDOPADHYAY, R.; KUMAR, V.; CHANDRA, R. Acclimatization of tissue cultured plantlets: from laboratory to land. **Biotechnology Letters**, v. 32, p. 1199-1205, 2010.

CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: Plantas para o futuro - Região Sul**. Brasília: MMA, 2011. p. 934.

CUNHA, M. F. B. e FORZZA, R. C. Orchidaceae no Parque Natural Municipal da Prainha, RJ, Brasil. **Acta Botânica Brasílica** v. 21, n. 2, p. 383-400, 2007.

DORNELES, L. T.; TREVELIN, V. Aclimação e reintrodução de *Cattleya intermedia* Graham. ex Hook. (Orchidaceae) obtidas por propagação *in vitro*. **Iheringia**, v. 66, p. 167-174, 2011.

EMER, A. A. Controlled release fertilizer used for the growth of *Campomanesia aurea* seedlings. **Ornamental Horticulture**. v. 26, n. 1, p. 35-44, 2020.

ENDRES JÚNIOR, D.; SASAMORI, M. H.; SILVEIRA, T.; SCHMITT, J. L.; DROSTE, A. Reintrodução de *Cattleya intermedia* Graham (Orchidaceae) em borda e interior de um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 13, n. 1, p. 33-40, 2015.

FARIA, R. T. **Paisagismo: harmonia, ciência e arte**. 1.ed. São Paulo, 2018.

FIETZ, C. R.; FISCH, G. F.; COMUNELLO, E.; FLUMIGNAN, D. L. **O clima da região de Dourados, MS.** (2. ed.). Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste. 2017.

GONÇALVES, C. N. e WAECHTER, J. L. Aspectos florísticos e ecológicos de epífitas vasculares sobre figueiras isoladas no norte da planície costeira do Rio Grande do Sul. **Acta Botânica Brasílica**, v. 17, n. 1, p. 89-100, 2003.

HEIDEN, G.; BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. Considerações sobre o uso de plantas ornamentais nativas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 12, n. 1, p. 2-7, 2006.

HUNHOFF, V. L.; SILVA, C. A.; LAGE, L. A.; KRAUSE, W.; PALÚ, E. G. Biologia, morfologia floral e potencial ornamental de *Cyrtopodium saintlegerianum* (Orchidaceae). **Revista AgroAmbiente**, v. 10, p. 358– 363, 2016.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Brazilian consumption of flowers and ornamental plants: habits, practices and trends. **Ornamental Horticulture**, v. 23, n. 2, p. 178-184, 2017.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. 3.ed. São Carlos: Rima. 2006. 531 p.

LEAL, L.; BIONDI, D. Potencial ornamental de espécies nativas. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, v. 4, n. 8, p. 1-16, 2006.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais do Brasil**. 3. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2001. 1120 p.

MOREIRA, M. M.; BARBERENA, F. F. V. A.; LOPES, R. C. Orchidaceae of the Grumari restinga: floristic and similarity among restingas in Rio de Janeiro state, Brazil. **Acta Botânica Brasílica**, v. 28, n. 3, p. 321-326, 2014.

MULLER, T. S.; DEWES, D.; KARSTEN, J.; SCHUELTER, A. R.; STEFANELLO, S. Crescimento *in vitro* e aclimação de plântulas de *Miltonia flavesceus*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 252-254, 2007.

OSTETTO, S. **Orquídeas de Mato Grosso do Sul**. Campo Grande: Alvorada. 2015.14p.

RECH, A. R.; ROSA, Y. B. C. J.; MANENTE-BALESTIERI, F. C. L. Aspects of the reproductive biology of *Brassavola cebolleta* Rchb.f. (Orchidaceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 32, n. 4, p. 335-341, 2010.

RECH, A. R.; ROSA, Y. B. C. J.; ROSA-JUNIOR, E. J. Levantamento e características ecológicas de Orchidaceae da mata ciliar do rio dourados, Dourados-MS. **Revista Árvore, Viçosa**, v. 35, n. 3, p. 717-724, 2011.

SILVA, T. S.; FELIX, L. P. e MELO, J. I. M. Bromeliaceae and Orchidaceae on rocky outcrops in the Agreste Mesorregion of the Paraíba State, Brazil. **Hoehnea**, v. 42, p. 345–365, 2015.

SOARES, J. S.; ROSA, Y. B. C. J.; MACEDO, M. C.; SORGATO, J. C.; ROSA, D. B. C. J.; Cultivo *in vitro* de *Brassavola tuberculata* (Orchidaceae) em meio de cultura alternativo suplementado com diferentes concentrações de açúcar e carvão ativado. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 24, n. 3, p. 226-233, 2012.

SOARES, J. S. **Técnicas de cultivo *in vitro* como alternativa para a conservação de *Schomburgkia crispa* Lindl. (Orchidaceae) e sua reintrodução em ambiente natural.** Tese de Doutorado em Recursos Naturais – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados - MS, 2018.

SOARES, J. S.; SANTIAGO E. F.; SORGATO, J. C. Conservation of *Schomburgkia crispa* Lindl. (Orchidaceae) by reintroduction into a fragment of the Brazilian Cerrado. **Journal for Nature Conservation**. v. 53, n. 125754, p. 1617-1381, 2020.

SORGATO, J. C.; SOARES, J. S.; ROSA, D. B. C. J.; LEME, C. S. R. L.; PEREIRA, S. T. S. e REZENDE, L. S. de R. Imersão em solução nutritiva e ácido giberélico promovem a aclimatização intermediária de *Dendrobium phalaenopsis* Deang Sure. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 13, n. 3, p. 176-180, 2015.

SOUSA, G. G.; ROSA, Y. B. C. J.; MACEDO, M. C.; SOARES, J. S. Aclimatização de *Brassavola tuberculata* com a utilização de ANA em diferentes substratos. **Horticultura Brasileira**, v. 33, p. 208, 2015.

THE PLANT LIST. Version 1.1. **Publicado na internet**; Disponível em: <http://www.theplantlist.org/>. Acesso em 16 abr. 2020.

TURCHETTI, N.L. **Paisagismo e ornamentação no Distrito Federal: comércio e uso de plantas nativas e exóticas do trabalho.** 2016. 58p. Monografia do Curso de Agronomia - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília.

WERNER, F.A.; GRADSTEIN, S.R. Seedling establishment of vascular epiphytes on isolated and enclosed forest trees in an Andean landscape, Ecuador. **Biodiversity and Conservation**, v. 17, p. 3195-3207, 2008.

ZHANG, S. Physiological diversity of orchids. **Plant diversity**, v. 40, p. 196-208, 2018.

ZILLER, S. R. Plantas exóticas invasoras: a ameaça da contaminação biológica. **Ciência Hoje**, v. 30, n. 1780, p. 77-79, 2001.

ZUCCHI, M. R. Ornamental and landscape potential of a bromelia native to the Cerrado. **Ornamental Horticulture**, v. 25, n. 4, p. 425-433, 2019.