

**DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE *Cattleya walkeriana* GARDNER EM
DIFERENTES MEIOS DE CULTURA**

Margaret Seghetto Nardelli¹, Aline Viana², Caroline Beal Montiel², Sama Beatriz Kuhn³,
Vanessa Liesenfeld² e Andréa Maria Teixeira Fortes⁴

¹ Doutora no curso de Agrícola, Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), Setor Cascavel/PR.
margaretseghetto@hotmail.com

² Mestre no curso de Conservação, Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - Setor Cascavel/PR.
alineviana.botany@gmail.com, caroline_montiel@hotmail.com, vane_lie@hotmail.com

³ Doutora no curso de Biologia Comparada, Universidade Estadual de Maringá (UEM), samabk@hotmail.com

⁴ Prof. Dra. adjunta do curso de Botânica - Unioeste - Setor Cascavel/PR. andrea.fortes@unioeste.br

RESUMO: As orquídeas em ambiente natural sofrem exploração devido a sua importância ornamental. O cultivo *in vitro* é uma alternativa para a conservação *ex-situ*. Objetiva-se determinar meio de cultura eficiente e econômico para o crescimento inicial de plântulas de *Cattleya walkeriana*. Sementes germinadas, em cultura básica "C" de Knudson, após 10 meses, foram transferidas para quatro diferentes meios de cultura: (1) Knudson puro, (2) Knudson acrescido de abacate 50 g.L⁻¹, (3) Knudson acrescido de abacate 100 g.L⁻¹ e (4) Knudson acrescido de banana prata a 100 g.L⁻¹, com cinco repetições cada tratamento. Em cada frasco foram inoculadas cinco plântulas. Após 90 dias, foram avaliados comprimento da parte aérea e raiz, número de brotos, folhas e raízes. A partir dessa análise observou-se que o meio acrescido de banana (4) obteve maior desenvolvimento em relação ao comprimento da raiz, maior número de raízes e de broto, e o meio acrescido de abacate (3), obteve maior número de folhas. Não houve diferença estatística em relação ao comprimento da parte aérea. Conclui-se que o meio acrescido de banana é mais eficiente que os demais meios testados para *C. walkeriana*, porém o meio acrescido com abacate também mostrou ser uma alternativa eficaz e econômica.

PALAVRAS- CHAVE: cultivo *in vitro*, micro-propagação, orquídea.

**DEVELOPMENT THE OF *Cattleya walkeriana* GARDNER SEEDLINGS IN
DIFFERENT CULTURE MEDIA**

ABSTRACT: Orchids, in natural environment, suffer of exploitation because of their ornamental importance. The *in vitro* culture is an alternative to the *ex-situ* conservation. The objective of this work is to determine efficient and economical alternative culture media for the initial germination and growth of *Cattleya walkeriana*. Germinated seeds cultured in basic culture "C" Knudson. After 10 months five seedlings: (1) Knudson pure, (2) Knudson with avocado 50 g.L⁻¹, (3) Knudson with avocado 100 g.L⁻¹ e (4) Knudson with banana "prata" 100 g.L⁻¹, were transferred to four different culture media, with five repetitions per treatment. After 90 days of the beginning of the experiment, were evaluated the length and number of shoots, number of leaves, length and number of roots. From this analysis it was observed that the banana culture media achieved greater development in relation to the length of the root and number of roots and shoots. The avocado culture media with concentration of 100 g.L⁻¹ had a higher number of leaves. There was no statistical difference in relation to the length of the shoot. The conclusion is that the banana culture media is more efficient than other culture media tested for *C. walkeriana*, but the media increased with avocado also proved to be an effective and economical alternative.

KEY WORDS: *in vitro* culture, micropropagation, orchid.

INTRODUÇÃO

Orchidaceae é a família com maior número de espécies dentre as Angiospermas, com aproximadamente 20.000 espécies (exceto híbridos artificiais), incluídas em cerca de 850 gêneros (Souza e Lorenzi, 2012). No Brasil, com ocorrência em todos os estados, cerca de 220 gêneros, com aproximadamente 2.500 espécies (Flora do Brasil, 2016; Souza e Lorenzi, 2012).

As orquídeas são ervas perenes, de hábito epifítico (Souza e Lorenzi, 2012; Silva, 2003) e apresentam grande diversidade quanto ao tamanho, forma dos caules e folhas, e principalmente à cor e formato de suas flores (Schneiders et al., 2012). Devido a sua exuberância são muito apreciadas para ornamentação, cultivadas como flores de corte e plantas envasadas (Galdiano et al., 2014).

Um dos representantes do grupo das orquídeas, que vem se destacando pela beleza de suas flores e seu colorido, são as catléias (Schneiders et al., 2012). As espécies deste gênero têm despertado interesse, tanto dos orquidicultores nacionais como dos internacionais, como exemplo a *Cattleya walkeriana* Gardner, devido seu tamanho reduzido, variabilidade de cores e a vantagem na facilidade de cultivo (Menezes, 2011).

Cattleya walkeriana é nativa do Cerrado central brasileiro (Barros et al., 2010) e embora se encontre na lista de plantas presumivelmente em extinção no estado de Minas Gerais (Fundação Biodiversitas, 1997), não entrou em caráter de extinção, de acordo com a última listagem do Ibama (Brasil, 2008).

A *Cattleya walkeriana* Gardner, como também outras orquídeas, estão sendo afetadas negativamente pela coleta predatória indiscriminada e a destruição de seu habitat natural (Schneiders et al., 2012; Colombo et al., 2004; 2005).

Outra questão preocupante em relação às orquídeas refere-se a sua dificuldade de regeneração em condições naturais uma vez que, além de apresentar crescimento lento, com florescimento que pode chegar a 10 anos (Ferreira e Suzuki, 2008), a nutrição necessária para a germinação destas plantas na natureza é dependente da sua associação com fungos (micorrizas) (Benavent, 2011; Rasmussen, 2002).

Diante das problemáticas referidas acima, o cultivo *in vitro* tem se destacado como uma ferramenta alternativa na obtenção e propagação de orquídeas (Pedroso De Moraes et al., 2009; Martini et al., 2001).

Uma vez que esta técnica revela importância fundamental em três aspectos: Comercial, com produção de um número significativo de mudas uniformes (Figueiredo et al., 2007), em tempo relativamente curto e com boa qualidade fitossanitária (Martini et al., 2001; Herrmann et al., 2011); -Ecológico, devido contribuir para a redução do risco de extinção das espécies (Araújo et al., 2006), - e Preservacionista, que além de permitir através da aplicação de protocolos específicos origina plantas mais vigorosas para cultivo *ex vitro*, as quais podem ser direcionadas para repovoamento (Amoo et al., 2009).

Para garantir o sucesso do cultivo *in vitro*, a formulação do meio de cultura é uma etapa de extrema importância, uma vez que a sua composição nutricional favorece a germinação e o desenvolvimento radicular e vegetativo das plantas (Faria et al., 2002). Porém cada espécie cultivada revela exigências nutricionais específicas (Faria et al., 2002), e os meios de cultura comerciais mais comumente utilizados são constituídos por diversos nutrientes, vitaminas e reguladores de crescimento, os quais encarecem os custos da técnica do cultivo *in vitro* (Ventura et al., 2002).

A fim de reduzir custos na produção de mudas de orquídeas, laboratórios caseiros, tem utilizado meios de cultura alternativos de constituição orgânica (Araújo et al., 2006). Além destes produtos orgânicos serem economicamente mais viáveis, devido a acessibilidade e facilidade de preparação (Périco, 2011), podem substituir os elementos químicos presentes nos meios de cultura tradicionais no cultivo de orquídeas (Campos, 2002).

Sendo assim, este estudo tem como objetivo avaliar a eficiência no desenvolvimento de plântulas de *C. walkeriana* em quatro diferentes meios de cultura.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos com as plântulas de *C. walkeriana* foram realizados em Laboratório de Biotecnologia específico. As sementes estavam armazenadas em -20°C durante, aproximadamente, seis meses.

Para a germinação, as sementes foram embebidas em água destilada durante 24 horas, submersas em hipoclorito de sódio comercial 15% por 15 minutos para fazer a assepsia das mesmas, e lavadas 4 vezes com água destilada e esterilizada. Em seguida as sementes foram colocadas para germinar no meio de cultura.

O meio de cultura básico utilizado foi a formulação “C” de Knudson (1946), modificado pela adição de 20 g/L⁻¹ de sacarose, 6 g de ágar (Himedia, “Agar Agar, Type 1”), e 100 g/L⁻¹ de banana nanica, estágio de maturação 7 (OLIVEIRA-NETO, 2002). Os frascos com meio de cultura foram autoclavados durante 20 minutos em 1 atm de pressão e 120 °C.

Após a inoculação das sementes os frascos foram mantidos em sala de crescimento, com temperatura de 25±3°C, com foto-período de 16 horas proporcionado por lâmpadas fluorescentes de 40 Watts.

Após 10 meses, as plântulas crescidas das sementes germinadas (com a aproximadamente 1,0 cm e 2 folhas) foram transferidas para os diferentes meios de cultura, de modo a obter 4 tratamentos (Quadro 1). O pH do meio ajustado com KOH (1 N) ou HCl (50%) para 5,6 ± 0,1 antes da autoclavagem (20 minutos, com 1 atm e 120 °C). Em cada frasco foram inoculadas 5 plântulas. Os experimentos foram feitos com 5 repetições para cada meio testado.

Após a inoculação as réplicas foram mantidas nas mesmas condições de temperatura de luminosidade utilizadas na germinação. Após três meses mantidas *in vitro*, as plântulas foram analisadas quanto ao número de folhas e raízes formadas, comprimento das folhas e raízes, e o número de brotos induzidos por plântula.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 1 x 4 (Fator = Meios de cultivo: abacate (100 g/L⁻¹), Abacate (50 g/L⁻¹), Banana (100 g/L⁻¹), Knudson, conforme apresentado no quadro 1.

Quadro 1 – Níveis para o fator “Meios de cultivo” em experimento inteiramente casualizado (DIC).

Meio de Cultura	N	Descrição do meio de cultura
(1) Knudson	25	Formulação “C” de Knudson
(2) Abacate (50 g/L ⁻¹)	25	Formulação “C” de Knudson acrescido de 50 g de abacate
(3) Abacate (100 g/L ⁻¹)	25	Formulação “C” de Knudson acrescido de 100 g de abacate
(4) Banana (100 g/L ⁻¹)	25	Formulação “C” de Knudson acrescido de 100 g de banana prata

As variáveis respostas analisadas ao longo do experimento foram: Número de folhas, comprimento da parte aérea (cm), número de raízes, comprimento da raiz (cm), número de brotos.

Os dados amostrados foram avaliados quanto ao padrão de normalidades dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk ($\alpha=0,05$). Mesmo quando os resíduos não apresentaram distribuição normal, foi aplicado o teste de ANOVA fator único, uma vez que em experimentos inteiramente casualizados (DIC) o poder da análise é superior aos testes não paramétricos análogos (Reis e Ribeiro Jr., 2007). Em caso de significância estatística ($p<0,05$), os dados foram comparados por meio do teste de acompanhamento de Tukey-HSD.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o teste de Tukey $\leq 5\%$, para a espécie de *Cattleya walkeriana*, as médias de número de folhas (NF), número de raízes (NR), comprimento de raízes (CR) (cm) e o número de brotações (NB), apresentaram diferença estatística entre os tratamentos. Somente o comprimento de parte aérea (CPA) (cm), não apresentou diferença (Tab.1, Fig. 1).

Tabela 1 – Número de folhas (NF); Comprimento de parte aérea (CPA) (cm); Número de raízes (NR); Comprimento Médio de Raízes (CR) (cm); Número de brotações (NB); em diferentes meios e concentrações.

MEIOS	NF	CPA	NR	CR	NB
Knudson	8,56 ^{ab}	1,232 ^a	0,92 ^{ab}	0,16 ^{ab}	3,24 ^{ab}
Abacate (100 g/L ⁻¹)	11 ^a	1,280 ^a	0,8 ^b	0,14 ^b	4,04 ^{ab}
Abacate (50 g/L ⁻¹)	7,36 ^b	1,212 ^a	0,76 ^b	0,16 ^{ab}	2,92 ^b
Banana (100 g/L ⁻¹)	7,32 ^b	1,240 ^a	1,4 ^a	0,25 ^a	4,68 ^a

*Médias seguidas de letra minúscula diferentes na coluna diferem-se estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p = 0,05$).

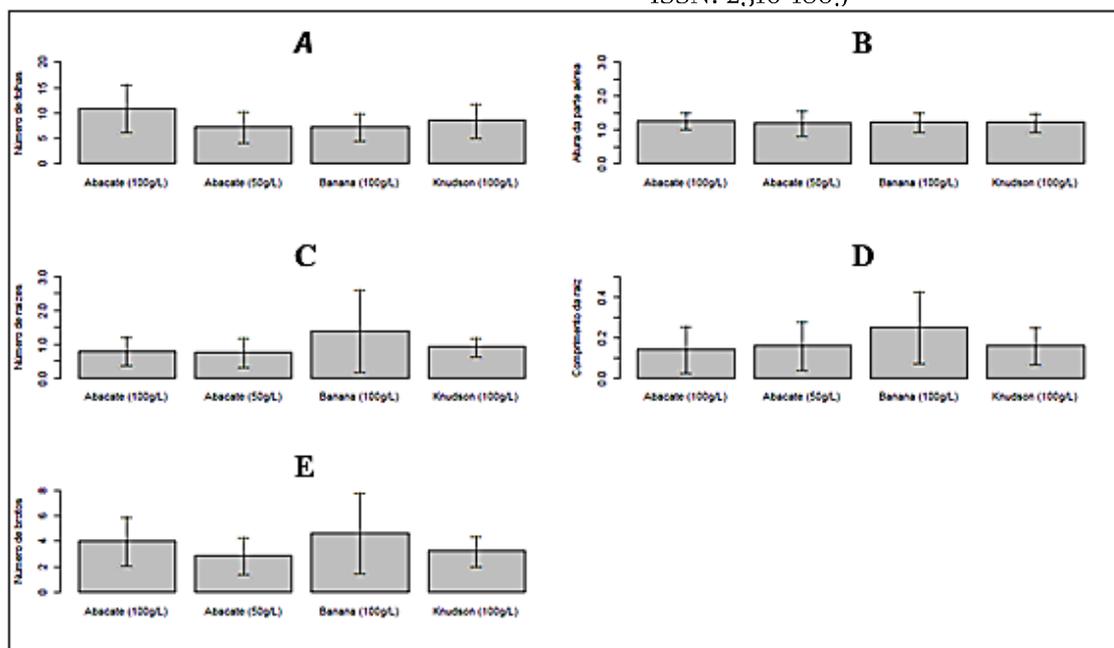


Figura 1 – Médias \pm desvio padrão do número de folhas (A); Comprimento de parte aérea (cm) (B); Número de raízes (C); Comprimento Médio de Raízes (cm) (D); Número de brotações (E).

O meio Knudson acrescido de polpa de banana “prata” influenciou o desenvolvimento das plântulas de maneira positiva, com resultados significativos para as médias de número de raízes (1,4), comprimento de raiz (0,25 cm) e número de broto (4,68) (Tab. 1, Fig. 1). Contribuindo, então, com um aumento no tamanho das raízes e maior número de brotos.

Resultado semelhante já havia sido encontrado por Su et al. (2012), que utilizaram a banana nanica (*Musa spp*) em meio de cultura para desenvolvimento de *Dendrobium nobile* Lindl, este desenvolvimento diferenciado pode ser atribuído à composição da polpa de banana, que pode suplementar vitaminas, aminoácidos e reguladores de crescimento ao meio de cultura, promovendo o aumento no número de brotos no cultivo de plântulas de orquídeas *in vitro* (Arditti e Ernst, 1993; Silva et al., 2005), além de promover diferentes efeitos no cultivo *in vitro*, assim como o desenvolvimento e espessamento do sistema radicular, emissão de raiz adventícias e emissão de brotos (Torres e Barbosa, 2001).

No presente trabalho foi verificado que o crescimento das raízes foi superior ao desenvolvimento da parte aérea. É possível que o meio acrescido de polpa de banana proporcionou maior crescimento da raiz devido às baixas concentrações de sais minerais,

sendo isso verdadeiro porque as orquídeas requerem maior demanda por nutrientes minerais (Knudson, 1946, Stancato et al., 2008).

Em relação ao número de folhas, foi observado que a concentração de 100 g/L⁻¹ de polpa de abacate adicionados no meio Knudson apresentou significância estatística, obtendo a maior média em número de folhas (11/plântulas). A concentração de 50 g/L⁻¹ de polpa de abacate no meio Knudson e o meio Knudson acrescido de polpa de banana tiveram resultados inferiores (7,36 e 7,32, respectivamente).

As concentrações de meio Knudson acrescido de polpa abacate 100 e 50 g/L⁻¹ obtiveram médias inferiores em relação ao número de raiz. E a concentração de 100 g/L⁻¹ de polpa de abacate teve a menor média de comprimento de raiz (0,14 cm) e a concentração de 50 g/L⁻¹ de polpa de abacate apresentou a menor média no número de broto (2,92) (Tab. 1, Fig.1).

O meio Knudson acrescido de polpa de abacate 100 g/L⁻¹ apresentou maior média no número de folhas, demonstrando ser promissor no desenvolvimento de plântulas de orquídeas. Isso pode estar relacionado a grande quantidade de minerais que essa fruta possui. Sendo que o Nitrogênio é responsável pelo crescimento de maior número de folhas (Pan et al., 1997, Alves et al., 2016). Estudo realizado por Soares et al. (2013) concluíram que sais minerais em altas concentrações, juntamente com uma dose de hormônios de crescimento, proporcionou um aumento no número de folhas em *Cattleya*. Entretanto, Wang (2000) observou que doses altas de P e K e baixas de N resultaram em menor número de folhas por planta de *Phalaenopsis* sp.

Este comportamento pode ter relação com a razão N:P, que dependendo da concentração podem ter efeitos negativos e imprevisíveis no meio. Isto é, além da importância das concentrações de N e P, a proporção de N : P (chamada de "relação Redfield") é um indicador importante, mostrando qual nutriente está limitando a produtividade. Assim, o nutriente que limitará o crescimento é o nutriente que atinge um valor mínimo antes dos demais nutrientes (Chapra, 1997).

Porém, a concentração de polpa de abacate (2 e 3) apresentou médias inferiores no comprimento e número de raiz, quando comparados ao meio com polpa de banana (4), isso pode estar relacionado com a disponibilidade de nutrientes, visto que a raiz cresce e se desenvolve para absorver nutrientes. E o comprimento de raiz pode estar relacionado ao fato de que todo nutriente absorvido em excesso pode provocar um desbalanço nutricional na

planta (Soares et al., 2008). Como o meio de cultura (2 e 3) pode estar apresentando uma grande quantidade de nutrientes, assim, pode estar afetando nas médias inferiores de desenvolvimento da raiz, provocado pela interação do nutriente entre absorção e reação celular (Malavolta et al., 1997).

Em relação à número de brotos, Soares et al., (2009) observaram em seu estudo, o aumento na concentração de sais pode não ser adequado para produção de novas brotações. Diferentemente do estudo citado acima, foi observado neste estudo, que a concentração de 100 g/L⁻¹ de polpa de abacate adicionados no meio Knudson apresentaram média em número de brotos intermediária (4,04), não havendo uma grande diferença entre os meios com polpa de abacate (3) e meios com polpa de banana (4).

Já o meio acrescido com polpa de abacate em concentração menor a 50 g/L⁻¹ não obteve diferenças significativas nos parâmetros analisados. Sendo considerada essa concentração de polpa de abacate inviável para o cultivo de *C. walkeriana*.

O meio Knudson sem adição de fruta obteve uma média intermediária em relação ao número de raiz (0,92), comprimento de raiz (0,16 cm), número de brotos (3,24) e número de folhas (8,56) (Tab. 1).

O meio Knudson (1) é mundialmente conhecido, sendo empregado para a micropropagação de orquídeas epífitas e terrestres. Proporcionam crescimento vigoroso às plântulas da maioria das espécies de orquídeas, sendo compostos por macro e micronutrientes minerais em baixas concentrações (Stancato et al., 2008).

Porém em estudos de Araújo et al. (2006), o meio acrescido de polpa de banana obteve melhor desenvolvimento no conteúdo de matéria seca, das plântulas de *Laelia tenebrosa*, comparados a outros meios. Para o parâmetro comprimento da parte aérea, não foi observado diferença estatística entre os meios analisados (Tab. 1).

CONCLUSÃO

A partir da análise dos diferentes meios de cultura, pôde-se verificar que o meio Knudson com adição de banana prata é o mais indicado para o maior desenvolvimento no cultivo de brotos de *Cattleya walkeriana* quando comparado à suplementação com abacate ou com meio tradicional puro.

O presente trabalho reforça a relevância dos estudos que pretendem avaliar os efeitos da adição de diferentes compostos orgânicos ao meio de cultura tradicional para o cultivo *in*

in vitro de orquídeas, de modo a baratear o custo e/ou acelerar o desenvolvimento destas plantas que têm grande importância tanto ecológica como econômica.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela bolsa de estudos concedida à primeira autora, processo número 88881.134251/2016-01 do PDSE.

REFERÊNCIAS

ALVES, G. A. C.; HOSHINO, R.T.; SOUZA, M. F. F.; FREIRIA, G.H.; FURLAN, F. F. BARBOSA, A.P.; BERTONCELLI, D. J.; FARIA, R.T. Desenvolvimento de mudas de *Oncidium Baueri* Lindley em diferentes concentrações de Nitrogênio. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v.5, n.2, p.89-99, 2016.

AMOO, S.O; FINNIE, J.F; VAN STADEN J. In vitro propagation of *Huernia hystrix*: na endangered medicinal and ornamental succulent. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 96, n. 3, p. 273-278, 2009.

ARAÚJO, A.G; PASQUAL, M; VILLA, F; COSTA, F.C. Água de coco e polpa de banana no cultivo in vitro de plântulas de orquídeas. **Revista Ceres**, Viçosa, Minas Gerais, v. 53, n. 310, p. 608- 613, 2006.

ARDITTI, J; ERNST, R. **Micropropagation of orchids**. New York, United States of America, John Wiley & Son, 1993, 682 p.

BARROS, F; VINHOS, F; RODRIGUES, V.T, BARBERENE, F.F.V.A; FRAGA, C.N. **Orchidaceae**: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2010. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB000179>>. Acessado em: 15 de abril, 2016.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa no 6, de 23 de setembro de 2008. **Lista oficial de espécies brasileiras ameaçadas de extinção**. 2008. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/documentos/lista-de-especies-ameacadas-de-extincao>>. Acessado em: 24 abril, 2016.

BENAVENT, I.M. **Manual para el cultivo In Vitro de la Orquidea *Cattleya nobilior*** “Flor símbolo de concepción”. 2011.

CAMPOS, D.M. **Orquídeas: manual prático de cultura**. 3. ed. Rio de Janeiro: Expressão e Cultura. 2002, 143p.

Chapra, S.C. **Surface Water-Quality Modeling**. Editado: Steven C. Chapra. 1ed. Long Grove, Illinois: Waveland Press, INC. 1997.

COLOMBO, L.A; FARIA, R.T; CARVALHO, J.F.R.P; ASSIS, A.M; FONSECA, I.C.B. Influência do fungicida clorotalonil no desenvolvimento vegetativo e no enraizamento *in vitro* de duas espécies de orquídeas brasileiras. **Acta Scientiarum**, v. 26, n. 2, p. 253-258, 2004.

COLOMBO, L.A; FARIA, R.T; CARVALHO, J.F.R.P; 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**, v. 27, n.1, p. 145-150, 2005.

FARIA, R.T; SANTIAGO, D.C; SARIDAKIS, D.P; ALBINO, U.B; ARAÚJO, R. Preservation of the brazilian orchid *Cattleya walkeriana* Gardner using *in vitro* propagation. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 2, n. 3, p. 489-492, 2002.

FERREIRA, W.M; SUZUKI, R.M. **O cultivo in vitro de orquídeas como alternativa para a preservação de espécies nativas ameaçadas de extinção**: Loiola MIB, Baseia IG & Lichston JE (orgs) Atualidades desafios e perspectiva da botânica no Brasil. Imagem Gráfica Natal, p. 67-68, 2008.

FIGUEIREDO, M.A; SANTOS, F.M; COSTA SILVA, J.O; SILVA COSTA, F.H; PASQUAL, M. Variações no meio de cultura sobre o crescimento *in vitro* em híbridos de orquídea. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 294-296, 2007.

FLORA DO BRASIL. **Orchidaceae**: Flora do Brasil 2020 em construção Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.br.gov.br/reflora/floradobrasil/FB179>> Acessado em: 12 maio, 2016.

FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS. Lista das espécies presumivelmente ameaçadas de extinção da flora do Estado de Minas Gerais. 1997-2016 Disponível em: <http://www.biodiversitas.org.br/listasmg/MG-especies-presumivelmente-meacadaspdf>> Acessado em: 27 abril, 2016.

GALDIANO JR, R.F; MANTOVANI, C; GOMES, E.S; GASPARINO, E.C; MORO, F.V; LEMOS, E.G.M. Morfologia da germinação de sementes e crescimento *in vitro* de *Cattleya walkeriana* Gardner em diferentes meios nutritivos. **Comunicata Scientiae**, v. 5, n. 4, p. 456-463, 2014.

HERRMANN, 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.

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

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. 1997. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2 ed. Piracicaba: Potafos. 319p.

MARTINI, P.C; WILLADINO, L; ALVES, G.D; DONATO, V.M.T.S. Propagação de orquídea *Gongora quinquenervis* por sementeira *in vitro*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 36, n. 10, p. 1319-1324, 2001.

MENEZES, L.C. *Cattleya walkeriana*. Ibama, Brasília, 2011, 273 p.

OLIVEIRA NETO, O. C. **Maturação e conservação sob atmosfera modificada de Bananas Prata, Pacovan e Nanicão tratadas pós-colheita com 1-metilciclopropeno (1-MCP)**. 155f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2002.

PAN, R. C.; YE, Q. S.; HEW, C. S. Physiology of *Cymbidium sinense*: a review. **Scientia Horticulturae**. Toronto, v.70, n.2, p.123-129, 1997.

PEDROSO DE MORAES, C; DIOGO, J.A; PEDRO, N.P; CANABRAVA, R.I; MARTINI, G.A; MARTELINE, M.A. Desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae) utilizando fertilizantes comerciais. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n.1, p. 67-69, 2009.

RASMUSSEN, H.N. Recent developments in the study of orchid mycorrhiza. **Plant soil Netherlands**, v. 244, n. 1/2, p. 149-163, 2002.

REIS, G.M.; RIBEIRO JR., J. I. **Programa R**. Viçosa: UFV, 2007.

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

SILVA, E.F. **Multiplicação e crescimento *in vitro* de orquídea *Brassiocattleya Pastoral X Laeliocattleya Amber Glow***, Dissertação de Mestrado em Agronomia – Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, p. 1-62, 2003.

SILVA, E.F; PASQUAL, M; PAIVA, P.D.O; SILVA, A.B; NOGUEIRA, D.A. Polpa de banana e vitaminas do meio MS no cultivo *in vitro* de orquídea. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 1, n. 1, p. 8-12, 2005.

SOARES, J.D.R; ARAÚJO, A.D; PASQUAL, M; RODRIGUES, F.A; ASSIS, F.A. Concentrações de sais do meio Knudson C e de ácido giberélico no crescimento *in vitro* de plântulas de orquídea. **Ciência Rural**, v.39, n.3, p.772-777, 2009.

SOARES, J.D.R.; PASQUAL, M.; RODRIGUES, F, A.; VILLA, F.; CARVALHO, J. G. Adubação com silício via foliar na aclimatização de um híbrido de orquídea. **Ciência e Agrotecnologia, Lavras**, n.2, v.32, p.626-629, 2008.

SOARES, J.S; ROSA, Y.B.C.J; SUZUKI, R.M; SCALON, S.P.Q; ROSA JR, E.J. Cultivo *in vitro* de *Dendrobium nobile* com uso de água de coco no meio de cultura. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n.1, p. 63-67, 2013.

SOUZA, V.C; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil**. APG III, Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 3^a ed., 2012.

STANCATO, G.C; ABREU, M.F; FURLANI, A.M.C. Crescimento de orquídeas epífitas in vitro: adição de polpa de frutos. **Bragantia**, v. 67, n.1, p. 51-57, 2008.

SU, M.J; SCHNITZER, J.A; FARIA, R.T. Polpa de banana e fertilizantes comerciais no cultivo *in vitro* de orquídea. **Científica Jaboticabal**, v. 40, n. 1, p. 28-34, 2012.

TORRES, A.C; BARBOSA, N.V.R. Condições de incubação para cultura in vitro. **ABCTP Notícias**, p. 1-7, 2001.

VENTURA, G.M; DIAS, J.M.M; TEIXEIRA, S.L; CARVALHO, V.S; MOTOIKE, S.Y; NOVAIS, R.F; CECON, P.R. (2002) Organogênese *in vitro* a partir de gemas apicais e axilares de plantas adultas de orquídeas do grupo *Cattleya*. **Ceres**, v.49, n. 286, p. 613-628, 2002.

WANG, Y. T. Impact of a high phosphorus fertilizer and timing of termination of fertilization on flowering of a hybrid of moth orchid. **HortScience**, New York v.35, n.1, p.60-62, 2000.