

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

AGRONOMIA

**FERTILIZANTES COMERCIAIS NO CULTIVO *IN VITRO* DE
ORQUÍDEAS**

CARINY SANTOS FRANÇA



Cariny Santos França

**FERTILIZANTES COMERCIAIS NO CULTIVO *IN VITRO* DE
ORQUÍDEAS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de Ciências
Agrárias da Universidade Federal de
Minas Gerais, como requisito parcial,
para a obtenção do título de Bacharel
em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Claudinéia
Ferreira Nunes

Cariny Santos França.

**FERTILIZANTES COMERCIAIS NO CULTIVO *IN VITRO* DE
ORQUÍDEAS**

Aprovado pela banca examinadora constituída por:

Prof. Dr. Leandro Silva de Oliveira - ICA-UFMG

Mariane Kristal Ribeiro Silva - Engenheira Agrícola e Ambiental

Monielly Soares Andrade- Eng. Agrônoma – Doutoranda em Produção Vegetal

Prof. Dr. Claudinéia Ferreira Nunes – Orientador ICA-UFMG

Montes Claros, 16 de março de 2021.

RESUMO

A família *Orchidaceae* compreende grande quantidade de espécies, e delas tem-se obtido muitos híbridos, as orquídeas possuem beleza exótica e atraem muitos colecionadores, além de movimentar o mercado das plantas ornamentais. Muitas destas espécies se encontram em extinção devido ao extrativismo ilegal para a obtenção de diferenciadas plantas. Uma das maneiras de reverter esse quadro é por meio do cultivo com auxílio de técnicas laboratoriais, visando a comercialização de mudas, a conservação e possível reintrodução dessas plantas no habitat natural. A germinação *in vitro* de sementes de orquídeas permite a propagação em grande quantidade e qualidade de diversas espécies de orquídeas. Na produção de orquídeas em laboratório são utilizados componentes e ou reagentes para o preparo dos meios de cultura, produtos de custo elevado, o que eleva ainda mais o custo final da muda. Muitos laboratórios e colecionadores tem promovido a germinação de orquídeas com meios preparados com produtos mais baratos, de fácil aquisição no comércio ou até mesmo componentes alternativos. Essa prática tem respondido de forma satisfatória no tocante à produção de mudas de orquídeas. Diante disso a presente revisão tem por objetivo comentar dados disponíveis sobre o histórico e a situação atual do cultivo *in vitro* de orquídeas com a utilização de meios de cultura de menor custo para a sua propagação em escala comercial. A pesquisa foi realizada no Instituto de Ciências Agrárias da UFMG, *Campus* Montes Claros, por meio de acesso aos portais de busca na internet, em sites como Google acadêmico, periódico Capes, Web of Science, Scielo dentre outros. Ao final da pesquisa pode-se aferir que as orquídeas são de grande importância ornamental, e que as pesquisas a respeito de seu cultivo *in vitro* com fertilizantes comerciais sob diferentes doses e formulações, além da introdução de polpas de frutas na formulação é possível, apresentando a polpa da banana com grande potencial nas formulações, além de fertilizantes comerciais competitivos aos meios já utilizados atualmente, afirmando-se como alternativas aos produtores, colecionadores e amantes da espécie de produzi-la.

Palavras-chave: Orquídea. Propagação. Plantas Ornamentais.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relação das espécies de orquídeas com explantes utilizados e meio de cultura para seu cultivo *in vitro* _____ 23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANA - ácido α -naftalenoacético

B - Boro

BAP - Benzilaminopurina

Cl - Cloro

Co - Cobalto

Cu - Cobre

Fe - Ferro

g - Gramas

GA3 - Ácido giberélico

Graus Celsius - °C

Iodo - I

L - Litro

LCM - mepiquat

Mg - Magnésio

mL - Mililitro

MN - Meio Novais

Mn - Manganês

Mo - Molibdênio

MS - Murashige e Skoog

N, P, K - Nitrogênio, Fósforo, Potássio.

PIB - Produto Interno Bruto

PBZ - paclobutrazol

S - Enxofre

Zn - Zinco

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	8
2. METODOLOGIA	11
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1 Aspectos gerais das Orquídeas	11
3.2 Cultivo <i>in vitro</i>	14
3.3 Meios de Cultura: Formulações	16
3.4 Meios Simplificados: Fertilizantes Comerciais	18
3.5 Suplementos Adicionais	22
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

1. INTRODUÇÃO

As orquídeas caracterizam-se como uma das maiores famílias de angiospermas do mundo, constituída por aproximadamente 850 gêneros, 20.000 espécies, além da quantidade de híbridos superior a 30.000 (SOUZA; LORENZI, 2005). Em função das características ornamentais, beleza, exuberância e variedade de formas e cores, as orquídeas apresentam elevada importância econômica para o setor ornamental e também para os colecionadores (SUZUKI; FERREIRA, 2008), destacando-se como a família de plantas com maior potencial de comercialização (ROBERTS; DIXON, 2008). A produção de orquídeas no Brasil tem alcançado resultados promissores nos últimos anos, devido à adoção de técnicas produtivas eficientes e variedade de espécies e cultivares disponibilizadas no mercado pelos produtores (SEBRAE, 2015).

O setor da floricultura e plantas ornamentais tem se destacado dentro do mercado do agronegócio, graças à variabilidade de seus produtos, formas, aromas e cores. Nesta última década tem-se mostrado como um importante segmento que movimenta a economia brasileira (FURTINI NETO; BOLDRIN; MATTSON, 2015).

Em estudo mercadológico realizado pelo SEBRAE e pesquisa feita pelo Sindicato do Comércio Varejista de Flores e Plantas Ornamentais do Estado de São Paulo (Sindiflores) e Hórtica Consultoria e Treinamento, as rosas, no ano de 2014 ocupavam primeiro lugar na preferência do consumidor, principalmente em datas comemorativas do calendário como dia das mães, dia dos namorados, dia internacional da mulher e dia da secretária. As orquídeas ocupavam o segundo lugar na comercialização de flores, tanto as de corte como envasadas (SEBRAE, 2015).

Em segundo estudo realizado pelo SEBRAE, dentre os produtos do setor de importação, as mudas de orquídeas aparecem como um desses produtos, vindas principalmente da Holanda e Tailândia que é um país referência em orquídeas (SEBRAE, 2015). No Brasil o consumo interno de orquídeas é maior do que a produção do país, e o estado referência em âmbito nacional é o Espírito Santo comercializando por ano em média de 115.000 mudas de orquídeas, sendo a maioria produzidas com tecnologias como o uso do cultivo protegido (SEBRAE, 2015).

Nas espécies mais comercializadas de orquídeas têm-se as que apresentam tamanhos considerados grandes como as *Phalenopsis* e *Cymbidium*, e as menores como *Denfal* mini, *phalaenopsis* dentre outras. De acordo com o SEBRAE, existem muitas associações de orquídeas em quase todos os estados, essas associações são compostas principalmente por

coleccionadores e produtores, que possuem seu próprio sistema de cultivo e a comercialização ocorre em escala menor. Muitas das espécies trabalhadas não apresentam características comerciais desejadas como o tamanho, mas possuem beleza estimada, valor cultural e também há a produção de híbridos. As associações contribuem ainda pela difusão do conhecimento sobre a espécie e sobre a conscientização e preservação das nativas encontradas em algumas regiões do Brasil (SEBRAE, 2015).

No habitat natural, a germinação e o desenvolvimento das plântulas de orquídeas dependem de diversos fatores como umidade, luminosidade, temperatura e a simbiose com os fungos micorrízicos, responsáveis tanto pela nutrição do embrião quanto das plantas na fase adulta (DEARNALEY; MARTO; SELOSSE, 2012). Desse modo, a taxa de germinação e o crescimento das orquídeas na natureza, ocorrem de forma lenta e reduzida, devido à variabilidade dos fatores intrínsecos ao seu desenvolvimento, além da perda de vigor resultante da endogamia e a susceptibilidade das plantas ao ataque de patógenos, fazendo-se necessário a adoção de técnicas alternativas, visando promover maiores taxas de germinação e consequentemente maior obtenção de mudas (DEARNALEY; MARTO; SELOSSE, 2012).

A literatura revela que o cultivo *in vitro* de orquídeas, com o uso de meios nutritivos, possibilita a obtenção de plantas em escala comercial (STEWART; KANE, 2006) e, dentre os meios mais utilizados, encontram-se o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), meio KC (KNUDSON, 1946) e meio VC (VACIN; WENT, 1949), responsáveis pela maior taxa de germinação das sementes (MARTINI *et al.*, 2001). Entretanto, embora estes meios tenham promovido maior autonomia no cultivo de orquídeas, os mesmos apresentam valor elevado, o que limita a produção de mudas de orquídeas por produtores ou colecionadores com situação financeira reduzida, levando estes a utilizar produtos “alternativos”, ou seja, de fácil acesso e baixo custo, para sustentar sua produção.

No preparo dos meios de cultura para a produção do cultivo *in vitro* na produção de mudas de orquídeas, tem-se utilizado os suplementos adicionais com a finalidade de enriquecer o meio, estes suplementos são advindos de produtos naturais, como a polpa de banana, água de coco e polpa de tomate (TORRES *et al.*, 2001). De acordo com George (1993), os suplementos são capazes de fornecer vitaminas, sais minerais, atuarem como reguladores de crescimento dentre outros benefícios que podem ser faltantes nos meios de cultura tradicionais.

Diante da importância ecológica, econômica e ornamental das orquídeas é relevante realizar uma revisão e o objetivo é comentar dados disponíveis sobre o histórico e a situação

atual do cultivo *in vitro* de orquídeas com a utilização de meios de cultura de menor custo para a propagação, por serem plantas genuinamente admiradas.

2. METODOLOGIA

Para esta revisão de literatura, a metodologia baseou-se em informações de cunho científico relacionadas ao cultivo *in vitro* das orquídeas. A pesquisa bibliográfica foi descritiva, explorou-se conteúdos que envolveram experimentações e ensaios com meios de cultura e suas formulações, meios de cultura simplificados e suplementos adicionais, utilizados pela biotecnologia para o cultivo *in vitro* de orquídeas.

As informações foram coletadas por meio eletrônico em sites como Google acadêmico, periódicos Capes, *Web of Science*, *Scielo*, *Sci-Hub*, além de livros sobre a temática. Os ensaios utilizados compreenderam os trabalhos nos anos de publicação de 1909 até 2021.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Aspectos gerais das Orquídeas

As orquídeas são plantas pertencentes à família Orchidaceae A. Juss. e ordem Asparagales (STEVENS, 2017), caracterizando-se como uma das maiores famílias de angiospermas do mundo, constituída por aproximadamente 850 gêneros e 20.000 espécies, ademais, evidencia-se uma quantidade de híbridos superior a 30.000 (SOUZA; LORENZI, 2005). Embora a família Orchidaceae tenha sido descrita oficialmente em 1789 pelo botânico Antoine Laurent de Jussieu (DAHLGREN; CLIFFORD; YEO, 1985), as plantas foram citadas em diversas obras precedentes, como por exemplo, a obra *Genera Plantarum*, publicada em 1737 por Lineu, onde foram descritos 8 gêneros de orquídeas e a obra *Species Orchidum et Affinium Plantarum* em 1740 (JARVIS; CRIBB, 2009). Posteriormente, Charles Darwin em 1862, publicou a obra *The Contrivances By Which Orchids Are Fertilised By Insects*, abordando os mecanismos da polinização e a sua relevância para a perpetuação das orquídeas (YAM; ARDITTI; CAMERON, 2009; SINGER, 2009).

Segundo Brito, Cribb (2005), o botânico José Mariano da Conceição Vellozo foi o precursor no Brasil a realizar levantamentos e estudos sobre a família Orchidaceae, sendo responsável pela identificação de 1.640 espécies brasileiras durante uma expedição no Rio de Janeiro, entre os anos de 1783 e 1790. Seu estudo foi publicado 39 anos após e viabilizou a constituição da obra *Flora Fluminensis*. Posteriormente, o botânico e naturalista, Barbosa Rodrigues realizou novos levantamentos entre os anos de 1877 e 1891, identificando mais de 400 espécies de orquídeas além da descoberta de novos gêneros que possibilitou a publicação da obra *Genera et Species Orchidearum Novarum* que serviram como base para estudos posteriores (SILVA; SILVA, 2010).

Embora seja observada uma distribuição cosmopolita entre as espécies de orquídeas, são encontradas em maiores proporções nas florestas tropicais e subtropicais úmidas (DRESSLER, 2005). De acordo com Silva; Silva, (2010), aproximadamente 200 gêneros e 2.500 espécies de orquídeas foram catalogadas no Brasil, sendo os gêneros mais abundantes o *Acacallis*, *Aspasia*, *Batemannia*, *Bifrenaria*, *Brassavola*, *Catasetum*, *Cattleya*, *Cirrhaea*, *Comparettia*, *Coryanthes*, *Cycnoches*, *Cyrtopodium*, *Epidendrum*, *Galeandra*, *Gomesa*, *Gongora*, *Grobya*, *Ionopsis*, *Laelia*, *Lepanthopsis*, *Leptotes*, *Lockartia*, *Masdevallia*, *Maxilaria*, *Miltonia*, *Mormodes*, *Octomeria*, *Oncidium*, *Ornithocephalus*, *Pleurothallis*, *Polystachia*, *Promenaea*, *Rodriguezia*, *Schomburgkia*, *Sobralia*, *Sophronitis*, *Stanhopea*, *Stelis*, *Trichocentrum*, *Vanilla*, *Xylobium* e *Zygopetalum*.

A família Orchidaceae compreende o maior número de espécies no bioma de Mata Atlântica, em função das condições edafoclimáticas intrínsecas que favorecem o seu desenvolvimento, no qual as espécies de hábito epífita são predominantes (KERSTEN, 2010), estima-se que existam na Mata Atlântica 1413 espécies de orquídeas, acompanhado pela Floresta Amazônica com 750 espécies, Cerrado com 669 espécies e a Caatinga com 134 espécies (FORZZA *et al.*, 2010).

A família Orchidaceae possui características únicas, e são plantas antigas, além de que são uma das mais evoluídas dentre as espécies vegetais (MEZZALIRA; KUHN, 2019). Uma diversidade de características referencia a família das orquídeas tais como, flores trímeras, raízes com velame, uma pétala modificada em labelo, caule separado em rizoma e cauloma e ovário ínfero unilocular. Em sua maioria as espécies de orquídeas possuem somente uma antera que é fértil, além de antera opércula e pólen fusionado em polínias, com cauloma inchado no pseudobulbo, o filete e estilete possuem estrutura semelhante a um prisma, sementes muito

pequenas e em número consideravelmente grande e geralmente tunicadas (BARROS *et al.*, 2018).

Consoante Dressler (1981), relata que os principais hábitos evidenciados pelas orquídeas são a epífita, rupícola, terrestre e saprófita. Dentre os quais o epifitismo, de acordo com o autor, deriva de uma característica primitiva, no qual algumas espécies de plantas, situadas em regiões úmidas, desenvolveram-se sobre rochas com deposição de matéria orgânica, permitindo, desse modo, a ocupação de novos nichos e a adaptação evidenciada nos dias atuais, sendo o hábito epífita observado em 70% das espécies (GRAVENDEEL *et al.*, 2004). Há, no entanto, orquídeas saprófitas que são espécies aclorofiladas e sua sobrevivência ocorre mediante a associação com fungos micorrízicos (DRESSLER, 1993). Já as orquídeas rupícolas são as que possuem raízes estabelecidas entre rochas, a pleno sol, sendo a incidência de água sobre elas em menor quantidade e de forma a escoar rapidamente (MIRANDA; OLIVEIRA, 1983).

Devido à estrutura que as flores das orquídeas possuem, os insetos são de elevada importância para a realização do processo de polinização, pois as flores das orquídeas necessitam deles para o transporte dos grãos de pólen até o órgão feminino, e na maioria das flores a parte feminina não é exposta suficientemente (RUSCHI, 1986). As flores das orquídeas se apresentam em diversos tamanhos, formas e cores, além disso, apresentam variados aromas, que atraem estes insetos, os principais polinizadores que se destacam, pertencem as seguintes ordens Díptera, Lepidóptera, Coleóptera e Himenóptera (DRESSLER, 1981).

As flores de orquídeas possuem em sua estrutura três pétalas modificadas, duas são semelhantes a alas e uma é denominada labelo, ou lábio, esta é a pétala que se apresenta com coloração mais chamativa e serve como auxílio para facilitar a atividade dos insetos no momento da polinização (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2011). Já os frutos das orquídeas são em formatos de capsulas, neles ficam armazenadas as sementes sendo elas bem pequenas (ARDITTI, 1992).

As orquídeas apresentam elevada variedade de gêneros e espécies, devido à beleza das suas flores e exotismo têm se tornado cada vez mais apreciadas por colecionadores ou para a constituição de projetos paisagísticos. O mercado de produção de orquídeas no Brasil encontra-se em crescente expansão, sendo responsável pela geração de renda e empregos (MORAES, 2003). Segundo o Instituto Brasileiro de Floricultura (2014), a cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais, movimentou no país 10,2 bilhões de reais no total, contribuindo com o P.I.B brasileiro uma média de 4,5 bilhões de reais (IBRAFLOR, 2014).

Como a família das orquídeas apresentam uma gama de variedades, cores, formas e perfumes diferenciados, elas se tornaram um destaque no setor da floricultura, muitas delas, principalmente as mais raras apresentam um valor comercial elevado, movimentando cada vez mais a economia do setor (SUZUKI, 2014). Além disso, é grande a paixão de colecionadores distribuídos por todos os estados brasileiros. De acordo com Silva (2016), não é de hoje que a família das orquídeas conquista pessoas, isso iniciou-se principalmente com a preocupação em relação a torná-las conhecidas e demonstrar o grande potencial que elas têm, não sendo apenas plantas parasitas como muitas vezes foram descritas.

3.2 Cultivo *in vitro*

As orquídeas são flores que comportam grande beleza visual, apesar disso sua propagação natural ocorre de forma satisfatória para os ambientes naturais, mas em termos de comercialização, se todas as plantas fossem obtidas pela propagação natural, seria um processo lento e não vantajoso (CAMPOS, 2002).

Segundo Arditti (1992), as orquídeas possuem sementes pequenas e nelas há pouca quantidade de reserva nutritiva para dar condições as sementes para germinar. O primeiro trabalho que trouxe veracidade ao fato foi de Noel Bernard, 1909, para ele ocorria um processo denominado simbiose, quem tinha papel fundamental para as sementes germinarem, com auxílio dos fungos micorrízicos.

Outro segmento para fornecer mudas de orquídeas, que vem sendo utilizado graças à biotecnologia, é a utilização do cultivo *in vitro* (STANCATO; BEMELMANS; VEGRO, 2001). O cultivo *in vitro* é uma técnica de propagação em que são usados tecidos, células, órgãos vegetais como folhas, pedaço de caule, meristemas e segmentos nodais para dar origem a uma nova planta semelhante à planta-mãe. (QUISEN; ANGELO, 2008). Para isto o procedimento é realizado sob meio asséptico, em meios de cultura contendo nutrientes e sais minerais necessários para que o meio propagativo tenha condições de se desenvolver, todo este material é propagado em tubos de ensaios ou em recipientes adequados (SILVA, 2016). De acordo com SOUZA *et al.*, (2006) a técnica do cultivo *in vitro* dentro da agricultura apresenta grande potencialidade para o desenvolvimento de mudas de plantas difíceis de propagar, e a técnica permite que sejam feitas em períodos curtos, em grande escala, e além do mais são obtidas plantas de qualidade livre de doenças e patógenos.

Em relação ao mercado, de acordo com o Instituto Brasileiro de Floricultura, uma das principais plantas em vasos cultivadas no Brasil é a orquídea, tendo destaque para a *Phalenopsis* (IBRAFLOR, 2018). Para a produção de plantas em vasos incluindo as demais espécies, até o ano de 2014, cerca de 810 hectares vem sendo utilizados para a produção de mudas em estufas, e totalizando a quantidade de hectares com as flores de corte e jardinagem chega-se a 13.770 hectares (IBRAFLOR, 2018). Em estudo realizado no ano de 2013 a produção de flores e plantas em vasos estava concentrada na região sudeste compreendendo um percentual de 83,48%, um desses produtos em primeiro lugar sendo da orquídea e outras espécies (JUNKEIRA; PEETZ, 2014).

De acordo com Hoehne (1940), a germinação natural das sementes de orquídeas ainda que pequena e com pouca reserva podem produzir em média entre duas a cinco plantas de uma quantidade de mil sementes. Ramos, Carneiro (2007), demonstraram em seus estudos que independentemente da espécie, a propagação de orquídeas pode ser otimizada por meio dos métodos de micropropagação no cultivo *in vitro*. O termo deriva do latim e indica “em vidro”, sendo empregado para determinar técnicas artificiais que ocorrem em âmbito laboratorial, com condições de luminosidade e temperatura controladas.

Segundo Martini *et al.* (2001) o cultivo de orquídeas *in vitro* faz-se imprescindível para a aquisição de plantas de qualidade em larga escala, possibilitando desse modo, maior taxa de germinação das sementes, mediante a técnica de germinação *in vitro*. Pelo fato do cultivo ocorrer em ambiente controlado, torna-se possível a produção de plantas preservando o vigor e a sanidade. De acordo a espécie da orquídea, a propagação realizada em laboratório, dentro das condições ideais de assepsia, nutrição, luz e temperatura a germinação pode chegar até 100%, sendo mais propício do que esperar a germinação natural que apresenta baixa porcentagem (HOSHI; KONDO; HAMATANI, 1994).

Outro fator preponderante está relacionado à preservação de espécies em extinção, seja pela destruição do seu habitat natural ou pela coleta ilegal por extrativistas. O cultivo *in vitro* possibilitou não apenas a reintrodução dessas plantas no habitat de origem, mas a autonomia do produtor diante a multiplicação de espécies para comercialização, reduzindo a pressão sobre as orquídeas silvestres e conseqüentemente a sua retirada do meio natural (MORAES, 2003).

Segundo Kerbauy, Handro (1981), por muito tempo os cientistas defenderam o pressuposto de que as sementes de orquídeas eram incapazes de germinar, embora a quantidade de sementes presentes nas cápsulas sejam elevadas e de fácil dispersão, devido ao fato de não

apresentarem compostos de reserva que viabilizem o desenvolvimento do embrião, a taxa de germinação é bastante reduzida na natureza, sendo assim, a reprodução dessas plantas era realizada mediante a utilização de gemas e outras estruturas reprodutivas. Consoante, os autores Kerbauy, Handro (1981), fizeram o primeiro relato acerca da germinação de sementes de orquídeas, o qual foi realizado na Inglaterra, na cidade de Salisbury, em 1804, utilizando-se as sementes das orquídeas *Bletilla Rchb. f.*, *Orchismorio L.*, e *Limodorum verecundrum Prodr.* Por meio dessa pesquisa os cientistas conseguiram provar que as orquídeas apresentam sementes viáveis, aptas à germinação, embora os processos utilizados para tal fim não fossem esclarecidos.

O botânico Lewis Knudson, por meio de pesquisas que avaliaram processos metabólicos de angiospermas, realizou a coleta e extração dos compostos radiculares presentes na orquídea *Ophry spp.*, obtendo o percentual de 48% de mucilagem, 27% de amido, 5% de proteína, e quantidades reduzidas de açúcares e sais (KERBAUY; HANDRO, 1981). De acordo com os resultados atingidos e com base em estudos precedentes, Lewis aplicou o extrato na germinação de sementes de orquídeas e verificou a possibilidade da germinação das sementes, atuando na bioconversão de moléculas complexas em substâncias simples, assimiláveis pelo embrião, dando origem posteriormente ao meio Knudson, comumente utilizado no cultivo *in vitro* (KERBAUY; HANDRO, 1981). Diante desse contexto, o cultivo *in vitro*, além de auxiliar na recuperação de espécies de orquídeas em extinção, atua na preservação do meio ambiente, reduzindo o extrativismo de espécies nativas e otimização da cadeia produtiva, visando suprir as necessidades do mercado consumidor. Segundo Silva *et al.* (2017), o cultivo *in vitro* de espécie de orquídea nativas do cerrado, com a utilização dos meios nutritivos garantem que o desenvolvimento das plântulas ocorram de maneira uniforme, como observado em seu ensaio com a espécie e *Cyrtopodium saintlegerianum*, sob o meio de cultura Knudson C.

3.3 Meios de Cultura: Formulações

Na cultura de tecidos a propagação de plantas *in vitro* é feita utilizando como suporte para os materiais vegetais, os chamados meios de cultura, estes meios são formulados com variadas substâncias que servem de base para os explantes desenvolverem e crescerem. Neles estão contidos os nutrientes fundamentais para suprir as necessidades do material que crescerá naquele ambiente (LAMEIRA *et al.*, 2000). Os meios de cultura são formulados com

macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, sais minerais, carboidratos, reguladores de crescimento e alguns suplementos adicionais como polpas de frutas, água de coco dentre outros (QUISEN; ANGELO, 2008). As formulações dos meios de cultura podem variar em quantidades para que atendam de forma satisfatória a necessidade dos diferentes tipos de explantes, sendo que nos meios de cultura pode-se acrescentar vitaminas, aminoácidos, dentre outros aditivos nutritivos (LAMEIRA *et al.*, 2000).

As vitaminas auxiliam no desenvolvimento dos materiais *in vitro*, sendo as mais utilizadas nos meios de cultura, tiamina, ácido nicotínico e piridoxina. Caso seja uma necessidade dos explantes, os aminoácidos podem ser adicionados aos meios de cultura (QUISEN; ANGELO, 2008). Outras substâncias importantes no preparo dos meios de cultura são os reguladores de crescimento que auxiliam no desenvolvimento das plantas interferindo no balanço hormonal. Os reguladores de crescimento são utilizados nos meios de cultivo, pois contribuem no desenvolvimento e qualidade do crescimento dos explantes. Os mais conhecidos são as auxinas, citocininas e giberelinas (FACHINELO *et al.*, 2005).

Em experimento realizado por Santos *et al.* (2007), testaram-se reguladores de crescimento na germinação e formação de plântulas de orquídea *Cattleya bicolor*. Os reguladores utilizados foram o ácido α -naftalenoacético e ácido giberélico, foi feita a pré-embebição das sementes com os reguladores e em seguidas foram cultivadas no meio Knudson C. A pré-embebição foi nas seguintes concentrações: 0,0; 1,0; 2,0 e 5,0mg/L⁻¹ por um período de 24 horas. Ao avaliar os tratamentos os autores concluíram que o ácido giberélico foi mais eficiente na dose 1,0 mg/L⁻¹ pois nesta concentração o número de plântulas foi maior. O número de protocormos se apresentou maior na dose 2,0 e 5,0mg/L⁻¹. Já a auxina ácida α -naftalenoacético não apresentou resultado significativo para a *Cattleya bicolor*.

Em experimento realizado por Soares *et al.* (2009), testaram-se diferentes concentrações de sais do meio de cultura Knudson C e de GA₃ (ácido giberélico) no crescimento *in vitro* de plântulas das seguintes espécies de orquídeas *Hadrolaelia lobatta* x *Hadrolaelia purpurata* Aço e *Cattleya loddigesii*. Os testes foram feitos contendo o meio Knudson C nas seguintes concentrações de sais minerais 0, 50, 100 e 200%, o ácido giberélico foi acrescentado nas concentrações 0, 2,5, 5, 7,5 e 10 mg/L⁻¹. As variáveis analisadas foram: número de folhas, número de brotos, comprimento de parte aérea e matéria fresca das plântulas. Os autores ao final do experimento concluíram que, para a espécie *Cattleya* o meio Knudson C com concentração de sais a 200% viabiliza maior crescimento e a

dose de $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ de GA_3 foi a que apresentou maior número de folhas. Para a espécie *Hadrolaelia lobatta* x *Hadrolaelia purpurata* Aço, observou-se que com a concentração de sais em 200% houve maior número de folhas e na concentração 50% maior número de brotos. Para as duas espécies o GA_3 não apresentou diferença significativa nas demais variáveis.

Os meios de cultura são formulados segundo as necessidades nutricionais de cada espécie de orquídea e fornece os elementos essenciais para o crescimento e desenvolvimento dos tecidos *in vitro* (MORAES, 2003). Os principais nutrientes requeridos no preparo dos meios de cultura são os macronutrientes, constituídos pelo Fósforo (P), Magnésio (Mg), Nitrogênio (N), Cálcio (Ca), Potássio (K) e os micronutrientes, como o Manganês (Mn), Zinco (Zn), Boro (Bo), Cobre (Cu), Cloro (Cl), Molibdênio (Mo), Cobalto (Co) e Iodo (I), Ferro (Fe), adicionados principalmente na forma de sais inorgânicos. Pelo fato das plântulas cultivadas *in vitro* não serem capazes de sintetizar completamente as substâncias necessárias para o seu desenvolvimento, faz-se necessário adicionar uma fonte de carbono, sendo a sacarose a mais utilizada (FARIA *et al.*, 2012).

De acordo com Faria *et al.* (2012), existem diversas formulações de meios de cultura visando a propagação de orquídeas e, dentre as mais utilizadas, encontram-se o meio MS, (Murashige e Skoog, 1962), Knudson C (1946) e Vacin e Went (1949). O Meio MS é amplamente utilizado na propagação de diversas espécies de plantas e distingue-se dos demais em função da alta concentração de sais minerais, sendo empregado na germinação, crescimento de orquídeas.

Os Meios Knudson C e Vacin e Went, são empregados para a germinação, crescimento e micropropagação de orquídeas. A inclusão de polpa de frutas como a banana e a água de coco pode contribuir com melhorias da taxa de germinação. (FARIA *et al.*, 2012).

3.4 Meios Simplificados: Fertilizantes Comerciais

Com o passar dos anos houve-se a necessidade de adequar os meios de cultura para a propagação das plantas *in vitro*, apesar da já existência de diversas formulações nutricionais, como o mais utilizado e desenvolvido por Murashige e Skoog MS (1962). Nem sempre a composição nutricional do meio MS é suficiente para uma propagação de qualidade de todas as

espécies, devido à exigências nutricionais específicas (SOUZA; RESCAROLLI; NUNEZ, 2018).

Os meios simplificados podem atender as necessidades fisiológicas e nutricionais e serem uma alternativa de custo menos elevados para compra e produção, como os meios já existentes (SU; SCHINITZER; FARIA, 2012). Stancato, Bemelmans e Vergo (2001), também concordam que os meios simplificados são de baixo custo, sendo rentável para a produção de orquídeas, já que os meios tradicionais do cultivo *in vitro* apresentam valor elevado para obtenção. Desta forma surge os meios de cultivos simplificados com os fertilizantes comerciais. Os meios simplificados atendem bem as exigências para a propagação de diversas espécies vegetais como as da família Orchidaceae.

Muitos fertilizantes comerciais têm sido testados no cultivo *in vitro* de orquídeas, a seguir diversos trabalhos relatam sua utilização e resultados obtidos no desenvolvimento de algumas espécies de orquídeas. Há uma pequena diversidade nas composições e fontes de nitrogênio, fósforo e potássio, os mais utilizados são o Biofert[®], Kristalon Laranja[®], Dyna-Gro[®], Hyponex[®], Brennfeed 114[®], Peters[®] e Plantprod[®] dentre outros.

Em experimento realizado por Pedroso-de-Moraes *et al.* (2009), objetivaram-se analisar no desenvolvimento de sementes *in vitro* de *Cattleya tigrina* A. Richard, a influência de dois fertilizantes comerciais, sendo eles o Hyponex[®] (6,5-9-19) e Kristalon Laranja[®] (06-12-36 acrescidos ainda de carvão ativado, sacarose e polpa de banana.). Neste estudo houve também comparação com o meio MS. O Kristalon Laranja[®] apresentou melhores resultados quando avaliadas as seguintes variáveis: germinação e desenvolvimento das plântulas da espécie estudada de *Cattleya tigrina*. Este meio simplificado Kristalon Laranja[®] foi significativamente melhor que o Hyponex[®] na maioria das variáveis, como altura de plântulas, número de raízes, matéria fresca e comprimento da maior raiz. Desta forma, os autores definem o fertilizante Kristalon Laranja[®] como eficiente na germinação e desenvolvimento de sementes de *Cattleya tigrina* e além disso apresentam um valor acessível para utilização dele para meios de cultivo.

Em outro experimento, além de testar fertilizantes comerciais, também foram testados os suplementos adicionais que foi o caso da polpa de banana nanica no cultivo *in vitro* de um híbrido da orquídea *Phalaenopsis* (*P. amabilis* x *P. equestris*). Neste trabalho foi utilizado o meio de cultura composto pelo o meio MS modificado, e mais onze tratamentos com os fertilizantes comerciais Brennfeed 114[®] (05-05-06), Dyna-Gro[®] (09-03-06), Biofert[®] (08-09-

09), Peters® (20-20-20) e Plant-Prod® (20-20-20), cada um dos fertilizantes foram testados com e sem a polpa de banana, sendo que no preparo dos meios de cultura foram utilizados ainda o açúcar comercial, carvão ativado e o ágar. As seguintes variáveis foram avaliadas: área foliar, número de folhas e raízes, comprimento de raízes e massas de matéria secas de folhas e raízes. Os autores puderam concluir que, nos tratamentos em que foi utilizado o fertilizante comercial Biofert® com a polpa de banana, tiveram resultados significativamente melhores do que o meio de cultura MS sem a adição da polpa de banana e os demais fertilizantes comerciais (COLOMBO; FAVETTA; FARIA 2012).

Da Silva (2003), ao avaliar em seu experimento a propagação *in vitro* da espécie *Cattleya tigrina* A. Rich. Comparou o meio de cultivo MS comumente utilizado e o meio preparado com o fertilizante comercial Dyna-Gro® na proporção NPK (07-09-05) com adição de tomate e água de coco. Nas avaliações pode se constatar que os resultados com o fertilizante comercial Dyna-Gro® foram significativos.

O fertilizante comercial Dyna-Gro® (07-09-05) utilizado por Dronk (2004), em meio de cultivo *in vitro* também apresentou bons resultados na propagação de *Cattleya amethystoglossa* Linden&Rchb. F. ex Warner. Neste meio de cultura foram adicionados suplementos como a polpa de banana e a água de coco. Ao testar o fertilizante comercial para a espécie *Phalaenopsis* na propagação *in vitro* com o Dyna-Gro® (09-03-06) com a adição polpa de banana, não apresentaram resultados satisfatórios como na espécie *Cattleya* (DRONK, 2004).

O fertilizante comercial Peters® com formulação NPK (10-30-20) foi utilizado em experimento para cultivo *in vitro* da orquídea *Cattleya walkeriana* Gardner, no estudo testou-se diferentes concentrações, sendo elas: 0, 1, 2, 3, 4, 5, e 10g de meio dos fertilizantes que foram adicionadas com magnésio e outros micronutrientes, o meio também teve suplementos acrescentados que foram a água de coco, sacarose e carvão ativado. Pode-se concluir que quando utilizadas altas concentrações as raízes apresentaram maior sensibilidade, embora todas as plantas terem apresentado aspecto saudável e não terem apresentado estresse salino, na dose de 10g pode-se observar a hiperhidricidade resultando em baixo crescimento. Assim com a utilização do fertilizante comercial Peters® em diferentes concentrações, o aumento das concentrações não proporcionou crescimento de raiz e parte aérea, e as concentrações mais altas causaram diminuição do crescimento da orquídea (RODRIGUES *et al.*, 2012).

Em outro trabalho realizado por Rodrigues *et al.* (2012), com o cultivo *in vitro* de plântulas de um híbrido da orquídea Etibaia (*Cattleya walkeriana* x *C. loddigesii*) foi realizada uma comparação entre diferentes meios de cultivo, sendo eles o meio nutritivo Knudson C com o meio denominado MN (Meio Novais) e meios com o fertilizante simplificado Peters® na proporção NPK (10-30-20) com micronutrientes e o último meio com NPK (30-10-10) mais micronutrientes, em todos os meios de cultivos ainda foram adicionados ágar, carvão ativado e água de coco. Com as variáveis analisadas pode-se concluir que o fertilizante Peters® apresentou melhor resposta de matéria fresca em relação ao meio Knudson C e o meio MN, para a produção de matéria fresca foi possível observar um aumento com os meios feitos a partir do fertilizante comercial e o meio MN. De acordo com os autores os meios de cultivo *in vitro* para a espécie estudada podem ser substituídos por meios feitos com fertilizantes comercial Peters® e o meio MN.

Cunha *et al.* (2011), em experimento de cultivo *in vitro* da orquídea *Laeliocattleya schilleriana*, testaram o desenvolvimento da planta em meios de cultivos simplificados. Os meios de cultura foram o meio MS, e outros dois meios com os meios simplificados que foram o Hyponex® e o Kristalon Laranja®. Concluiu-se que o meio simplificado Hyponex® apresentou bons resultados para as variáveis número de raízes, comprimento total da plântula, comprimento da parte aérea, comprimento da maior raiz, comprimento da maior folha e massa fresca e seca da plântula inteira. Já o meio MS e o meio com o fertilizante Kristalon Laranja® apresentaram menores resultados para o desenvolvimento da *Laeliocattleya schilleriana*.

Os fertilizantes comerciais também foram utilizados por Vidoz *et al.* (1999), que teve como objetivo testar o desenvolvimento de plântulas de orquídeas *Brassavola perrinii* e *Cattleya forbesii* X *Brassavola perrinii*. Foram utilizados o meio MS e outro meio com uma solução feita a partir do fertilizante comercial Hyponex® na concentração (6-5-19), além de ter sido complementada com polpa de banana. Ao final do experimento os autores puderam constatar que no desenvolvimento das orquídeas o fertilizante Hyponex® foi inferior ao resultado do meio MS, mas quando as plantas foram aclimatadas em casa de vegetação, as plantas advindas do meio composto pelo Hyponex® e polpa de banana apresentaram nível de sobrevivência superior as que vieram do meio MS.

A utilização dos fertilizantes comerciais como meios simplificados tem aumentado ao longo dos anos, considerando que são feitas alterações e modificações em meios de cultivo tradicionalmente usados como o meio MS, os meios simplificados são formas mais fáceis e

mais acessíveis no mercado (PEDROSO-DE-MORAES *et al.*, 2009). As formulações dos meios simplificados é composta em sua maioria por nitrogênio, fósforo e potássio, que podem variar nas suas concentrações e ainda nestas formulações podem obter outros macronutrientes e a presença de alguns micronutrientes e os suplementos adicionais (PEDROSO-DE-MORAES *et al.*, 2009).

3.5 Suplementos Adicionais

Os suplementos adicionais vêm sendo utilizados nos meios de cultura, pois são substâncias que apresentam diversos nutrientes em que as plantas que serão cultivadas necessitam para o desenvolvimento no cultivo *in vitro*. A depender do estágio de crescimento e desenvolvimento da planta, se faz necessário adaptar o meio, pois, as plantas são fisiologicamente diferentes e têm necessidades nutricionais distintas (FARIA *et al.*, 2002). Diversos trabalhos foram realizados utilizando alguns suplementos adicionais, tendo destaque para a polpa de banana e água de coco mais utilizados e alguns outros como a polpa de tomate.

Favetta, Colombo e Faria (2014), em experimento com a orquídea *Vanda tricolor* Lindl, testaram o desenvolvimento das plântulas em diferentes meios de cultura, sendo eles o meio MS, e outro meio de cultura formulado com fertilizante comercial e adicionado a polpa de banana. Os meios com fertilizante foram com e sem a presença da polpa de banana. As variáveis analisadas foram área foliar, número de folhas e raízes, comprimento médio do sistema radicular e a matéria seca das raízes e ramos e matéria total. Ao final do estudo os autores concluíram que os resultados obtidos com o fertilizante comercial e a polpa de banana foram superiores ao meio MS. Assim plântulas da orquídea *Vanda tricolor* Lindl. podem ser cultivadas no fertilizante comercial com polpa da banana.

A banana é um alimento que apresenta alto valor nutricional, rica em sais minerais como potássio e sódio, apresenta em sua composição bons teores de carboidrato, o que a torna rica fonte de energia, contém ainda amido, açúcares e vitaminas como a vitamina B1, B2 e vitamina C (BORGES; SOUZA, 2004). Assim pode fornecer diversos nutrientes aos meios de cultura para cultivo das orquídeas. Na propagação *in vitro* da orquídea *Anoectochilus formosanus*, Shiau *et al.* (2002), ao utilizar o meio de cultivo MS adicionou além do carvão ativado a polpa de banana homogeneizada. Quando analisou os resultados de comparação do meio MS e o meio MS com a polpa de banana pode identificar que o meio modificado

apresentou melhores resultados no desenvolvimento vegetativo e no índice de matéria fresca *in vitro* da orquídea.

Vieira *et al.* (2009), em experimento testaram a água de coco e a polpa de banana como suplementos ao meio de cultura MS com carvão ativado, e verificaram a influência destes na propagação e crescimento *in vitro* do híbrido de orquídea *Cattleya labiata* x *Cattleya forbesii*. As variáveis analisadas foram: massa fresca, altura de parte aérea, comprimento da maior raiz, número de raízes, número de brotações e porcentagens de sobrevivência. Foram seis tratamentos e os melhores resultados foram o que continha meio MS com polpa de banana, meio MS com polpa de banana e água de coco com 50 e 100mL. De acordo com os autores a suplementação com polpa de banana e água de coco são eficientes no crescimento e desenvolvimento da orquídea *Cattleya labiata* x *Cattleya forbesii*.

Em trabalho de Araújo *et al.* (2006), testaram no cultivo *in vitro* de plântulas da orquídea *Cattleya loddgesii* ‘Grande’ x *Cattleya loddgesii* ‘Alba’, o meio Knudson C com suplementação com diferentes concentrações de água de coco sendo elas: 0, 50, 100, 150 e 200 mL⁻¹, junto com a polpa de banana nas concentrações 0, 25, 50, 75 e 100g, além de sacarose, carvão ativado e ágar. Após 180 dias de instalação dos experimentos os autores tiveram as seguintes conclusões, que a polpa de banana na concentração de 100g promoveu crescimento de parte aérea, das raízes e aumentou a matéria fresca das plântulas. A concentração de 50g de polpa de banana e 200mL da água de coco fizeram com que as plântulas apresentassem maior número de raízes e a matéria seca da parte aérea. E que a concentração 100ml de água de coco no meio de cultivo sem a polpa de banana favoreceu maior desenvolvimento das folhas da orquídea *Cattleya loddgesii* ‘Grande’ x *Cattleya loddgesii* ‘Alba’.

Segundo Aragão, Isberner e Cruz (2001), a água de coco em frutos com uma média de sete meses, apresenta sacarose, glicose, frutose, sais minerais, vitamina C entre outras substâncias benéficas, o que torna a água um suplemento que atua principalmente como regulador de crescimento. Caldas, Haridasan e Ferreira (1998) definem que a água de coco é um dos aditivos mais utilizados na propagação no cultivo *in vitro*, não só em espécies como orquídeas, mas diversas outras espécies vegetais. Na propagação *in vitro* da orquídea terrestre *Diuris longifolia* R. Br. Collins e Dixon (1992), utilizaram o meio de cultura VACIN e WENT (1949) e outro meio e em alguns dos tratamentos acrescentaram a água de coco para testá-la no cultivo *in vitro* desta espécie. Concluíram que a água de coco como suplemento ao meio de cultivo é significativa na propagação de *Diuris longifolia*.

Stancato, Abreu e Furlani (2008), testaram diferentes polpas de frutas no cultivo *in vitro* de três orquídeas epífitas, *Laelia longipes* Rchb. f., *Laelia tenebrosa* Rolfe e *Miltonia spectabilis* (Lindley) para verificar o efeito no crescimento de plântulas. Os meios nutritivos foram compostos por NPK na proporção (10-10-10), polpa de maçã, polpa de tomate sendo 10g e polpa de banana 50g, os outros meios para comparação foram os meios Knudson C, Vacin e Went, Murashige e Skoog. Os autores puderam concluir que para a orquídea *Laelia longipes* cultivadas no meio composto por NPK e polpa de banana a variável acúmulo de massa foi maior, e no meio MS apresentou menor valor. Para a orquídea *Miltonia spectabilis* constatou-se que o meio composto por NPK e polpa de banana apresentou o maior resultado para a variável massa seca e resposta inferior para o meio MS. Para a espécie *Laelia tenebrosa* o resultado foi similar. Os demais meios não foram significativamente eficazes, assim recomenda-se NPK com a suplementação da polpa de banana para estas três espécies de orquídeas.

A polpa de tomate também foi testada como suplemento adicional em meios de cultura por Ramos (1969), em seus experimentos para a propagação de sementes de orquídeas. Ele concluiu que o tomate contribui para aumentar a germinação das sementes. O autor indicou ainda que o feijão, a batata e o tomate podem ser acrescentados aos meios de culturas como suplementos adicionais para a propagação *in vitro* de orquídeas.

Na atualidade, é fato a contribuição da polpa de banana, água de coco e outros suplementos no preparo dos meios de cultura para o cultivo *in vitro*. Tais componentes, além de favorecer o crescimento e desenvolvimento das culturas em condições *in vitro*, também contribuem para a diminuição dos custos do processo de produção das mudas de orquídeas e várias outras espécies, Os trabalhos denotados a seguir demonstram a diversidade de meios alternativos, explantes utilizados além das espécies mais amostradas, onde pode-se notar a polpa de banana e água de coco como os suplementos adicionais mais utilizados. (Tabela 1).

Tabela 1. Relação das espécies de orquídeas com explantes utilizados e meio de cultura para seu cultivo <i>in vitro</i>			
Referência	Espécie	Explante	Meio de cultura
COLLINS; DIXON 1992.	<i>Diuris longifolia</i> R. Br	Sessão basal de botões florais	Meio Vacin e Went e água de coco.

ARAGÃO; ISBERNER; CRUZ, 2001.	<i>Laelia longipes</i> Rchb.f., <i>Laelia tenebrosa</i> Rolfe e <i>Miltonia spectabilis</i>	Sementes	Knudson C, Vacin e Went, MS e polpa de banana.
SHIAU <i>et al.</i> , 2002.	<i>Anoectochilus formosanus</i>	Sementes	Meio MS, carvão ativado e polpa de banana.
DRONK, 2004.	<i>Cattleya amethystoglossa</i> Linden e Rchb. F; ex Warner	Sementes	Fertilizante comercial, polpa de banana e água de coco.
ARAÚJO <i>et al.</i> , 2006.	<i>Cattleya loddgesii</i> 'Grande' x <i>Cattleya loddgesii</i> 'Alba'	Plântulas	Meio Knudson C, água de coco, polpa de banana.
SANTOS <i>et al.</i> 2007.	<i>Cattleya bicolor</i>	Plântulas	Meio Knudson C, ácido α -naftalenoacético e ácido giberélico.
STANCATO; ABREU; FURLANI, 2008.	<i>Laelia longipes</i> Rchb. f., <i>Laelia tenebrosa</i> Rolfe e <i>Miltonia spectabilis</i> (Lindley)	Plântulas	Meios Knudson C, Vacin e Went, MS, polpa de maçã, polpa de tomate e polpa de banana.
SOARES <i>et al.</i> 2009.	<i>Hadrolaelia lobatta</i> x <i>Hadrolaelia purpurata</i> Aço e <i>Cattleya loddigesii</i> .	Plântulas	Meio Knudson C e GA ₃ (ácido giberélico)
VIEIRA <i>et al.</i> , 2009.	<i>Cattleya labiata</i> x <i>Cattleya forbesii</i>	Plântulas	Meio MS, carvão ativado, água de coco e polpa de banana.

PEDROSO-DE MORAES <i>et al.</i> , 2009.	<i>Cattleya tigrina</i> A. Richard,	Sementes	Fertilizantes comerciais.
CUNHA <i>et al.</i> , 2011.	<i>Laeliocattleya schilleriana</i>	Sementes	Fertilizante comercial, meio MS.
FAVETTA, COLOMBO; FARIA 2014.	<i>Vanda tricolor</i> Lindl.	Plântulas	Meio MS, polpa de banana e fertilizante comercial.
RODRIGUES <i>et al.</i> , 2012.	<i>Cattleya walkameriana</i> Gardner	Plântulas	Fertilizante comercial, água de coco, sacarose e carvão ativado.
COLOMBO; FAVETTA. FARIA, 2012.	<i>Phalaenopsis</i> (<i>P. amabilis</i> x <i>P. equestris</i>)	Sementes	Fertilizantes comerciais, polpa de banana nanica e meio MS.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos estudos apresentados, a germinação *in vitro* é a principal via para obtenção de mudas de orquídeas para atender o mercado consumidor e os colecionadores. A revisão indica que as informações científicas sobre orquídeas se apresentam num ritmo pouco intenso no que se refere ao uso de suplementos adicionais e fontes alternativas de macronutrientes e micronutrientes, como os adubos comerciais. Em face aos trabalhos desta revisão, nota-se que há grande interesse na busca de meios alternativos, porém o fato de os mesmos não ofertarem alto grau de pureza a escolha de meios altamente puros é maior. Ao se comparar as médias de preços de meios alternativos com os meios puros, tem-se uma diferença considerável, porém, vale destacar que os meios apesar de alternativos podem não conter pureza necessária para uma produção em larga escala, na mesma proporção que o meio MS por exemplo. Destaca-se também nesse trabalho que a cultura de tecidos é uma ferramenta biotecnológica de grande importância para esse grupo de plantas que apresenta valor ecológico, ornamental e econômico. O interesse dos estudiosos em aplicar técnicas da cultura de tecidos para orquídeas é para a perpetuação e exploração sustentável dessas plantas, pois o cultivo *in vitro* permite uma maior produção de biomassa e conservação *in vitro* de recursos genéticos para esse grupo de plantas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAGÃO, W. M.; ISBERNER, I.V.; CRUZ, E.M. de O. **Água-de-coco**. Embrapa Tabuleiros Costeiros. Documentos, 24. Aracaju, 2001. 32p.

ARAÚJO, A. G.; PASQUAL, M.; VILLA, F.; COSTA, F. C. Água de Coco e Polpa de Banana no Cultivo *in vitro* de Plântulas de Orquídea. **Revista Ceres**, v. 53, n. 310, p. 608-613, 2006.

- ARDITTI, J. **Fundamentals of orchid biology**. New York: John Wiley & Sons, 1992.
- BARROS, F.; HALL, C. F.; NETO, V. B. P.; BATISTA, J. A. N. Checklist of the Orchidaceae from the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Iheringia – Serie Botânica**, v. 73, p. 287–296, 2018.
- BERNARD, N. **L'évolution dans la symbiose. Les orchidées et leurs champignons commensaux**. Paris : Masson et Cie, Éditeurs, Ann. Sci. Nat. Bot. Biol. 1909.
- BORGES, A. L.; SOUZA, L. da S. **O Cultivo da Bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 279 p. 2004.
- BRITO, A. L.V. T.; CRIBB, P. **Orquídeas da Chapada Diamantina**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira. p. 400. 2005.
- CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. **Meios Nutritivos. Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPH, v. 1. p. 87-132. 1998.
- CAMPOS, D. M. **Orquídeas: manual prático de cultura**. 3. ed. Rio de Janeiro: Expressão e Cultura, cap. 5. p.140-141. 2002.
- COLLINS, M. T., DIXON, K. W. Micropropagation of an Australian Terrestrial Orchid *Diuris longifolia* R. Br. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 32. p. 131-135, 1992.
- COLOMBO, R. C.; FAVETTA, V.; FARIA, R.T. Fertilizantes Comerciais e Polpa de Banana no Cultivo *in Vitro* de um Híbrido de *Phalaenopsis* (Orchidaceae). **Revista Ceres** vol.59 no.6 Viçosa Nov./Dec. 2012.
- CUNHA, T.; CORDEIRO, G. M.; MASSARO, R.; DEZAN, L. F.; PEDROSO-DE-MORAES, C. Desenvolvimento *in vitro* de *Laeliocattleya schilleriana* Rolfe em Meios de Cultivo Simplificados. **Scientia Plena**, 7:1-5. 2011. Disponível em: <<https://www.scientiaplena.org.br/sp/article/view/220/159>> Acesso em: 21 jun. 2019.
- DAHLGREN, R. M. T.; CLIFFORD, H. T.; YEO, P.F. **The families of the monocotyledons: structure, evolution, and taxonomy**. Berlin. Springer-Verlag. 1985.
- DEARNALEY, J.D.W.; MARTOS, F.; SELOSSE, M.A. **Orchid Mycorrhizas: Molecular Ecology, Physiology, Evolution and Conservation Aspects**. In: HOCK, B. (ed.) *The Mycota IX: fungal associations*, 2 ed., Springer: Berlin, p.207-230, 2012.
- DRESSLER, R. L. **How Many Orchid Species?** Selbyana. Vol. 26: 155-158p. 2005.

DRESSLER, R. L. **Phylogeny and Classification of the Orchid Family**. Timber Press, Portland, Oregon. USA. p.314, 1993.

DRESSLER, R.L. **The orchids: natural history and classification**. Harvard University Press, Cambridge. 1981. Disponível em: <file:///C:/Users/User/Downloads/BOOKTheOrchids.pdf> Acesso em: 20 jan. 2021.

DRONK A.G. **Meios de Cultura e Condições de Luminosidade para o Cultivo *in vitro* de *Cattleya amethystoglossa* Linden & Rehb. F.** 2004. Dissertação (Mestrado em agronomia). Universidade Federal do Paraná. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br> Acesso em: 20 jan. 2021.

FACHINELLO, J.C.; TIBOLA, C.S.; PICOLOTTO, L.; ROSSI, A.; RUFATO, L. Produtividade e qualidade de pêssegos obtidos nos sistemas de produção integrada e convencional. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 1, p. 64-67, 2005.

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

FAVETTA, V.; COLOMBO, R. C.; FARIA, R. T. Cultivo *in vitro* de *Vanda tricolor* Lindl. em Meios de Cultura Simplificados. **Rev. Cienc. Agrárias**.v. 57, n. 2, p. 114-117, abr./jun. 2014.

FORZZA, R. C.; BAUMGRATZ, J. F. A.; BICUDO, C. M. E.; CARVALHO J. R.; A. A., COSTA, A.; COSTA, D. P.; HOPKINS, M.; LEITMAN, P. M.; LOHMANN, L.G.; COSTA MAIA, L.C.; MARTINELLI, G.; MENEZES, M.; MORIM, M. P.; COELHO, M. A. N.; PEIXOTO, A. L.; PIRANI, J. R.; PRADO, J.; QUEIROZ, L. P.; SOUZA, V. C.; STEHMANN, J.C.; SYLVESTRE, L.S.; BRUNO M. T.; WALTER, B.M.T.; ZAPPI, D. **Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil**. Andrea Jakobsson Estúdio - Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.v.2. 2010.

FURTINI NETO, A. E.; BOLDRIN, K. V. F.; MATTSON, N. S. Nutrition and Quality in Ornamental Plants. **Ornamental Horticulture**, [s.l.], v. 21, n. 2, p.139-150 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14295/aohl.v21i2.809.> Acesso em: 20 jan. 2021

GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture: the technology**. 2. ed. Edington: Exegetics, pt. 1, 574 p.1993.

GRAVENDEEL, B.; SMITHSON, A.; SLIK, F. J. W.; SCHUITEMAN, A. Epiphytism and Pollinator specialization: Drivers for Orchid Diversity? *Philosophical Transactions of The Royal Society* .London B. 359: 1523-1535. 2004.

HOEHNE, F. C. **Flora Brasílica: Orchidaceas**. Secretaria de Agricultura , Industria e Comércio de São Paulo. v. 12; fasc. 1. SP. Coleção Embrapa Cerrados. 1940.

HOSHI, Y.; KONDO, K.; HAMATANI, S. *In vitro* seed germination of four Asiatic taxa of *Cypripedium* and notes on the nodal micropropagation of American *Cypripedium montanum*. **Lindleyana**. 1994.

IBRAFLOR. Mapeamento e Quantificação da Cadeia de Flores e Plantas Ornamentais do Brasil. São Paulo: Ocesp, 2014. Disponível em: <<https://www.ibraflor.com.br/boletim-ibraflor>.> Acesso em: 20 jan. 2021.

JARVIS, C.; CRIBB, P. **Linnaean Sources and Concepts of Orchids**. *Annals of Botany* 104:365–376p. 2009. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2720649/>> Acesso em: 27 jan. 2021.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. D. S. O setor produtivo de flores e plantas ornamentais do Brasil, no período de 2008 a 2013: atualizações, balanços e perspectivas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 20, n. 2, p. 115,2014.

KERBAUY, G.B.; HANDRO, W. Estudo do desenvolvimento *in vitro* de embriões de orquídeas. In: ENCONTRO NACIONAL DE ORQUIDÓLOGOS, Rio de Janeiro, RJ. **Anais** .Rio de Janeiro: Expressão e Cultura, 145-152p.1981.

KERSTEN, R.A. **Epífitas Vasculares: Histórico, Participação Taxonômica E Aspectos Relevantes, Com Ênfase Na Mata Atlântica**. *Hoehnea* 37 (1): 9-38p. 2010. Disponível em:<https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S2236-89062010000100001&script=sci_abstract&tlng=pt> Acesso em: 20 jan. 2021.

KNUDSON, L. **A New Nutrient Solution For The Germination Of Orchid Seeds**. *American Orchid Society Bulletin*, v. 15, p. 214-217, 1946.

LAMEIRA, O. A.; LEMOS, O. F.; MENEZES, I. C.; PINTO, J. E.B.P. **Cultura de Tecidos (manual)**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, Documentos, 66. p.41, 2000. Disponível em:<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/47132/1/Doc-61-A5.pdf> > Acesso em: 20 jan. 2021.

MARTINI, P.C.; WILLADINO, L.; ALVES, G. D.; DONATO, V. M. T. S. **Propagação De Orquídeas Gongora Quinquenervis Por Semeadura In Vitro**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 36, n. 10, p. 1319-1324. 2001.

MIRANDA, F.E.L.; OLIVEIRA, R.O. **Orquídeas rupícolas do Morro do Pão de Açúcar**, Rio de Janeiro. Atas da Sociedade Botânica do Brasil, (1983).Disponível em:<<https://fememg.com.br/wp-content/uploads/2019/10/caracteristicas-plantas-sobre-rochas.pdf>> Acesso 20 jan. 2021.

MORAES, L. M. **Influência do Carvão Ativado na Propagação in vitro de Três Espécies de Orquídeas Brasileiras**. Londrina. F.32, Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina. 2003.

MURASHIGE, T., SKOOG, F. **A Revised MédiumFor Rapid Growth and Bio Assays With Tobacco Tissue Cultures**. PhysiologiaPlantarum, v. 15, p. 473- 497, 1962.

PEDROSO-DE-MORAES, C.; SANTOS, N. S.; MASSARO, R.; CORDEIRO, G. M.; LEAL, T. S. Desenvolvimento in vitro de *Cattleya tigrina* a. richard (orchidaceae) Utilizando Fertilizantes Comerciais.**Ensaio e Ciência: C. Biológicas, Agrárias e da Saúde**. Vol. XIII, Nº. 2, Ano 2009.

QUISEN, R.C.; ANGELO, P.C.S. **Manual de Procedimentos do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental**. Manaus, 2008. 44p. Disponível em:<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/47132/1/Doc-61-A5.pdf>>Acesso em: 19 jan. 2021.

RAMOS, M.S.S. **A Orquídea e sua Reprodução pela Semente**. São Paulo. Ed. Saraiva, 103 p., 1969.

RAMOS, T. V.; CARNEIRO, I. F. **Multiplicação in vitro de Cattleya x mesquitae pelo método de estiolamento de segmentos caulinares**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2007. Disponível em:<<file:///C:/Users/User/Downloads/1840-Texto%20do%20artigo-8263-1-10-20071009.pdf>> Acesso em: 19 jan. 2021.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E.**Biologia Vegetal**. 5° ed. 2011. Disponível em:<<https://www.dropbox.com/s/blz1k7cv1bgzat4/Livro%20-%20Biologia%20Vegetal%20-%20Raven.pdf?dl=0>> Acesso em: 20 jan. 2021.

ROBERTS, D.L.; DIXON, K. W. Orchids.**Current Biology**, v.18, p.325-329. 2008. Disponível em:<<https://sci-hub.se/10.1016/j.cub.2008.02.026>> Acesso em 19 jun. 2020.

RODRIGUES, D. T.; NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; DIAS, J. M. M.; OTONI, W. C.; VILLANI, E. M. A. Cultivo *in vitro* de Plântulas de Orquídea em Meios com Diferentes Concentrações de Fertilizante Mineral. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n.1, p. 9-15, 2012.

RUSCHI, A. **Orquídeas do estado do Espírito Santo**. Rio de Janeiro 2º edição. Expressão e cultura. 1986.

SANTOS, G.A.; SAITO, B. C.; MONTEIRO D. P.; GUTIERRE, M. A. M.; ZONETTI, P. C. **Utilização de Reguladores Hormonais na Germinação e Formação de Plântulas *in vitro* de Orquídeas**.v. 09, n.01, p. 07-12. CESUMAR, Jan./Jun. 2007.

SEBRAE. Flores e plantas ornamentais do Brasil: Série estudos mercadológicos. Brasília: Sebrae, v.1, 2015. 42 p. Disponível em:<[http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/7ed114f4eace9ea970dadf63bc8baa29/\\$File/5518.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/7ed114f4eace9ea970dadf63bc8baa29/$File/5518.pdf)> Acesso em: 20 out. 2020.

SEBRAE. Flores e plantas ornamentais do Brasil: Série estudos mercadológicos. Brasília: Sebrae, v.2, 2015. 42 p. Disponível em: <[http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/7ed114f4eace9ea970dadf63bc8baa29/\\$File/5518.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/7ed114f4eace9ea970dadf63bc8baa29/$File/5518.pdf)> Acesso em: 20 jan. 2021.

SHIAU, Y. J.; SAGARE, A. P. L.; CHEN, U. C.; YANG, S. R.; TSAY, H.S. Conservation of *Anoectochilus formosanus* Hayata by Artificial Cross-pollination and *in vitro* Culture of Seeds. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v.43, p.123-130, 2002.

SILVA, A. L. L. **Avaliação de uma receita para o cultivo de orquídeas *in vitro***. Orquidário. 2003. Disponível em:<<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/550>>. Acesso em: 08 jun. 2020.

SILVA, C. S.; ARAUJO, L. G.; SOUSA, K. C. I.; SILVA, D. M. ; SIBOV, S. T.; FARIA, P. R. Germinação e desenvolvimento *in vitro* de orquídea epífita do Cerrado. **Hornamental Orticuture**, v. 23, no .1 , p. 96-100. 2017.

SILVA, M. F. F. F. da; SILVA, J. B. F.da. Orquídeas Nativas da Amazônia Brasileira II / Manoela F. F. da Silva, João Batista F. da Silva. – 2. ed. Rev. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2010. 518 p.: il. Disponível em:<<https://www.museu-goeldi.br/assuntos/publicacao/orquideas-nativas-da-amazonia-brasileira-ii.pdf>> Acesso 20 jan. 2021.

SILVA, M. M. A. **Cultivo *in vitro* de plantas e suas aplicações em cactáceas**. Campina grande - PBC INSA. 2016. Disponível em:

<<https://portal.insa.gov.br/images/acervocartilhas/Cultivo%20in%20vitro%20de%20plantas%20e%20suas%20aplica%C3%A7%C3%B5es%20em%20cact%C3%A1ceas.pdf>> Acesso em 26 de janeiro de 2021.

SILVA, V. M. **Colecionando orquídeas, colecionando o Brasil (1930-1950)**. Museologia e interdisciplinaridade. Vol5. N° 9, Jan/Jun 2016.

SOARES, J. D. R.; ARAÚJO, A. G.; 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**, vol.39 no.3 Santa Maria, Maio/Junho 2009.

SOUZA, A.S. JUNGHANS, T. G. **Introdução à cultura de tecidos de plantas. Introdução à Micropropagação de Plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. p.11-35. Disponível em :< <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/382772/cultura-de-tecidos-manual> > Acesso em 08 jun. 2020.

SOUZA, J. C.; RESCAROLLI, C. L. S.; NUNEZ, C.V. Produção de Metabólitos Secundários por Meio da Cultura de Tecidos Vegetais. **Revista Fitos**. Rio de Janeiro. 269-280p.2018.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: Guia Ilustrado Para Identificação Das Famílias De Angiospermas Da Flora Brasileira, Baseado Em APG II**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum. p.106. 2005.

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.

STANCATO, G. C.; BEMELMANS, P. F.; VEGRO, C. L. R. **Produção de Mudanças de Orquídeas a partir de Sementes in vitro e sua Viabilidade Econômica: Estudo de Caso**. Revista Brasileira de Horticultura Ornamental, Campinas, v.17, n.1, p. 25-33, 2001 (3) (PDF) Propagação in vitro de orquídeas brasileiras em meio de cultura simplificado. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/28241640_Propagacao_in_vitro_de_orquideas_brasileiras_em_meio_de_cultura_simplificado>. Acesso 15 Jun. 2020.

STEVENS, P.F S. **Angiosperm Phylogeny**. Website. Version 14, July 2017. Disponível em: <<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>>. Acesso 20 jan. 2021.

STEWART, S.L., KANE, M.E. **Asymbiotic seed germination and in vitro seedling development of *Habenaria macroceratitis* (Orchidaceae), a rare Florida terrestrial orchid**. Plant Cell Tiss Organ Cult 86, 147–158p. 2006. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1007/s11240-006-9098-y>><https://link.springer.com/article/10.1007/s11240-006-9098-y#citeas>>Acesso em: 20 jan. 2021.

SU, M. J.; SCHINITZER, 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.

SUZUKI, R. M; FERREIRA, W. M. Orquídeas: utilização comercial e conservação de espécies nativas brasileiras. p.47-49. In: M. I. B. LOIOLA; I. G. BASEIA; J. E. LICHSTON (Orgs.). Atualidades, Desafios e Perspectivas da Botânica no Brasil. **Anais**, 59º CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA. Natal - RN, 2008.

SUZUKI, R.M. Breve análise sobre o comércio exterior de orquídeas no Brasil. Instituto de botânica, SP. 21º REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO DE BOTÂNICA. **Anais** resumo expandido. 24 a 28 de nov, 2014.

TORRES, A.C.; BARBOSA, N.V.R.; WILLADIONO, L.; GUERRA, M.P.; FERRERIA, C.F.; PAIVA, S.A.V. **Meio e condições de incubação para cultura de tecidos de plantas**. Brasília: Embrapa-CNPq, (Circular Técnica). 20p. 2001.

VACIN, E; WENT, F.W. **Some Ph Changes in nutriente solutions**. Botanical Gazette, v.110, p. 605-613, 1949.

VIDOZ, M. L.; FLACHSLAND, E. A.; REY, H. Y.; MROGINSKI, L. A. **Comportamiento ex vitro de Plantas de Brassavola perrinii (Orchidaceae) y de Três Híbridos Intergenéricos**. In: **Comunicaciones Científicas y Tecnológicas**. SGCyT, Corrientes, v.5. p.13 –16, 1999.

VIEIRA, J. G. Z.; UNEMOTO, L. K.; YAMAKAMI, J. K.; NAGASHIMA, G. T.; FARIA, R. T.; AGUIAR, R. S. Propagação in vitro e Aclimatização de um Híbrido de *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) Utilizando Polpa de Banana e Água de Coco. **Científica, Jaboticabal**, v.37, n.1, p.48 – 52. 2009.

YAM, T.W.; ARDITTI, J.; CAMERON, K.M. “The Orchids Have Been A Splendid Sport” – An Alternative Look At Charles Darwin’s Contribution To Orchid Biology. **American Journal of Botany**. 2009. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/51174505_The_orchids_have_been_a_splendid_sp

ort-An_alternative_look_at_Charles_Darwin's_contribution_to_orchid_biology>Acessoem:
20 jan. 2021.