

# GERMINAÇÃO ASSIMBIÓTICA DO GÊNERO *Cattleya* EM DIFERENTES MEIOS NUTRITIVOS

## ASYMBIOTIC GERMINATION OF THE GENUS *Cattleya* IN DIFFERENT NUTRITIVE MEDIA

GEMIMA MANÇO DE MELO<sup>1</sup>, PATRÍCIA MARIA DE SOUZA PAULINO<sup>2</sup>,  
LILIA GOMES WILLADINO<sup>3</sup>, TEREZINHA RANGEL CAMARA<sup>4</sup>, CLÁUDIA ULISSES<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda em Botânica, Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, CEP 52171-900, Recife, PE, gemimamel081@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Doutoranda em Geotecnica Paulino, Universidade Federal de Pernambuco/UFRPE, Rua Acadêmico Hélio Ramos, s/n, CEP 50740-530, Recife, PE, patriciaaso\_1@hotmail.com

<sup>3</sup>Professora do Departamento de Biologia, Área de Botânica, Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, CEP 52171-900, Recife, PE, lilia@pesquisador.cnpq.br

<sup>4</sup>Professora do Departamento de Química, Área Química Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, CEP 52171-900, Recife, PE, tkrcamara@pq.cnpq.br

<sup>5</sup>Professora da Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE, Avenida Bom Pastor, s/n, CEP 55296-901, Garanhuns, PE, claudia@uag.ufrpe.br

### RESUMO

Entre as espécies de orquídeas brasileiras, o gênero *Cattleya* apresenta um grande destaque, devido ao tamanho e coloração exuberante de suas flores. Tendo em vista as diferentes exigências nutricionais de cada genótipo, o presente trabalho avaliou os meios MS e Knudson, completos e com a metade da força iônica, no intuito de observar a germinação da espécie *Cattleya labiata* Lindley e dos híbridos *Cattleya violacea* estriata pedrinho x *Cattleya violacea* pedrinho e *Cattleya violacea* pedrinho x *Cattleya violacea* H21/06-142. No experimento foi realizada germinação *in vitro*, sendo avaliados a viabilidade das sementes e o percentual de germinação. O trifênil cloreto de tetrazólio demonstrou uma viabilidade de 70% para as sementes de *C. labiata* e 95% para os híbridos. Foi observado que para a espécie *C. labiata* os meios nutritivos que proporcionaram maior percentual de germinação foram os meios MS e Knudson com a ½ da concentração dos sais, e para os híbridos o meio MS independente da concentração foi mais efetivo, apresentando superioridade em relação ao meio Knudson.

**Termos para indexação:** Orchidaceae, germinação *in vitro*, Knudson, teste de viabilidade.

### ABSTRACT

Among the Brazilian orchids, the genus *Cattleya* has a great accent, due to the size and gorgeous coloring of its flowers. Given the different nutritional requirements of each genotype, the present work evaluated the MS and Knudson media, full and half ionic strength, with the intention to observe the germination of the species *Cattleya labiata* Lindley and the hybrids, *Cattleya violacea* estriata pedrinho x *Cattleya violacea* pedrinho and *Cattleya violacea* pedrinho x *Cattleya violacea* H21/06-142. In the experiment, the germination was tested *in vitro*, being evaluated seed viability

and the percentage of germination. The triphenyl tetrazolium chloride showed a viability of 70% in the seeds of *C. labiata* and 95% for the hybrids. It was observed that for the species *C. labiata*, the nutrient media that provided higher germination percentage were the MS and Knudson media with half of the concentration of salts and to the hybrids, independent of concentration, the MS was more effective, showing superiority over Knudson.

**Index terms:** Orchidaceae, *in vitro* germination, Knudson, viability test.

### INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae Juss. está subdividida em cerca de 700 gêneros, possui aproximadamente 35.000 espécies espalhadas pelo mundo (MONTEIRO et al., 2009) e representa uma das mais evoluídas e mais diversificadas da divisão Angiospermae (FOCHO et al., 2010).

A flora brasileira, especialmente a mata atlântica, possui uma grande diversidade de orquídeas com potencial ornamental, no país são encontradas cerca de 2.400 espécies (MONTEIRO et al., 2009) e 200 gêneros, em destaque o gênero *Cattleya*, um dos mais apreciados pelo mercado consumidor (SOUZA & LORENZI, 2005).

As orquídeas apresentam uma grande diversidade de cores, formas e durabilidade, características

(Recebido em 29 de outubro de 2014 e aprovado em 15 de maio de 2015)

marcantes que impulsionam o mercado mundial de flores (ULISSES & SOARES, 2013). Para atender a expansão do mercado de orquídeas e a produção crescente de novos híbridos é fundamental o desenvolvimento de um método eficiente de propagação (KERBAUY, 2011). Nesse contexto o cultivo *in vitro* de células e tecidos é uma excelente alternativa para propagação de um grande número de espécies, sendo utilizado com sucesso na propagação de plantas ornamentais (COSTA et al., 2009), pois oferece mudas uniformes com alto padrão fisiológico e fitossanitário e em tempo reduzido (SEGEREN, 2011).

Em seu habitat natural, as sementes de orquídeas necessitam da presença de fungos micorrízicos, os quais através de uma relação simbiótica fornecem os nutrientes necessários para o desenvolvimento da plântula (COSTA et al., 2009). Por outro lado, no cultivo *in vitro*, as sementes são cultivadas, em um meio nutritivo adequado (forma assimiótica), que fornece nutrientes para a germinação e o posterior desenvolvimento da plântula, tornando muito eficiente na germinação e produção de mudas de orquídeas tropicais e subtropicais, pois além de crescerem em um ambiente controlado e estéril, a propagação através de sementes pode ser uma das maneiras mais importante de preservação das espécies (STANCATO et al., 2001).

Os meios nutritivos utilizados no cultivo *in vitro* de plantas, fornecem substâncias essenciais para o crescimento das mesmas e geralmente controlam o desenvolvimento *in vitro*, tendo por base as exigências nutricionais das plantas, com algumas modificações para atender às necessidades específicas de cada espécie (CALDAS et al., 1998).

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a germinação assimiótica do gênero *Cattleya* em diferentes meios nutritivos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Uma cápsula de *Cattleya labiata* Lindley e uma cápsula dos híbridos *Cattleya violacea* estriata pedrinho x

*Cattleya violacea* pedrinho e *Cattleya violacea* pedrinho x *Cattleya violacea* H21/06-142, todas com aproximadamente sete meses foram lavadas com detergente neutro comercial e água corrente. Posteriormente, em câmara de fluxo laminar, as cápsulas ficaram imersas em álcool 70% durante um minuto e em seguida imersas por 30 minutos em solução de hipoclorito de cálcio (CaOCl) na concentração de 3% de cloro ativo, acrescida de 0,5 mL<sup>-1</sup> de Tween 20%. Após essa assepsia foi realizada uma tríplex lavagem com água estéril deionizada para retirar o excesso dos agentes desinfestantes e em seguida, as cápsulas foram abertas e as sementes retiradas com auxílio de pinça e bisturi. Foram utilizadas 12 mg de sementes da espécie e dos híbridos supracitados para avaliar a viabilidade germinativa através do teste com 2, 3, 5 Trifenil Cloreto de Tetrazólio (TCT) 1%. Nesse teste, as sementes ficaram embebidas em água destilada durante 24 horas, em seguida foi adicionado o TCT (1%) e permaneceram pelo mesmo tempo em temperatura ambiente.

As sementes foram inoculadas em frascos com capacidade para 250 mL, contendo 40 mL de meio nutritivo e receberam os seguintes tratamentos: (T0) Meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) com metade da força iônica (½ MS); (T1) Meio MS completo; (T2) Meio Knudson “C” modificado (ARDITTI & ERNST, 1993) com metade da força iônica (½ Knudson); (T3) Meio Knudson completo. O meio MS é composto pelos macro e micronutrientes essenciais, por vitaminas, uma fonte de aminoácido e sacarose (30 g L<sup>-1</sup>), já o meio Knudson apresenta em sua composição macro e micronutrientes essenciais, sacarose (20 g L<sup>-1</sup>), todos em concentrações mais baixas, não contém vitaminas e aminoácidos, sendo um meio de composição mais simples.

O pH do meio nutritivo MS foi ajustado para 5,8 e do meio Knudson para 5,2, antes da adição de 6,5 g L<sup>-1</sup> de ágar e da autoclavagem a 121 °C por 20 minutos a 1 atm. Os explantes (sementes) permaneceram em sala de crescimento com temperatura de 25±2 °C, sob um fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 50 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo utilizados quatro tratamentos contendo cada um, dez repetições. A unidade experimental constou de 12 mg de sementes de orquídea por frasco.

O percentual de germinação foi monitorado sob microscópio estereoscópico a cada 15 dias, durante um período de 45 dias. Sendo consideradas germinadas as sementes que apresentavam embrião intumescido.

Os resultados obtidos foram normatizados pela transformação arcsen e submetidos à análise de variância (ANOVA), por meio do software Assistat 7.7 beta (ASSIS & SILVA, 2013), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação do teste de viabilidade das sementes demonstrou que aproximadamente 70% das sementes de *C. labiata* apresentaram embriões com coloração avermelhada, o que indicava atividade metabólica do processo respiratório do tecido embrionário e aproximadamente 30% dos embriões apresentava coloração branca, que por sua vez indicava a ausência dessa atividade. Já nos híbridos *C. violacea* estriata pedrinho x *C. violacea* pedrinho e *C. violacea* pedrinho x *C. violacea* H21/06-142, aproximadamente 95% das sementes eram viáveis. Em trabalhos realizados por Alvarez-Pardo & Ferreira (2006) a espécie *C. labiata* apresentou 63% de viabilidade das sementes utilizando-se o teste de viabilidade com o Cloreto de Tetrázólio (1%). O teste de viabilidade com TCT baseia-se na reação que ocorre entre o Cloreto de Tetrázólio e íons de H<sup>+</sup> resultantes do processo de respiração das sementes, o que forma um composto estável e não-difusível de coloração avermelhada, denominado formazan (MARCOS FILHO, 2005).

As sementes germinaram aos 15 dias de cultivo. A espécie *C. labiata* alcançou um percentual de germinação de 53% e os híbridos chegaram a alcançar 84% de germinação. Nesse período, as sementes de todos os tratamentos apresentavam uma discreta coloração esverdeada e intumescimento, ou seja, início do estágio de desenvolvimento. De acordo com Kraus et al. (2006), as

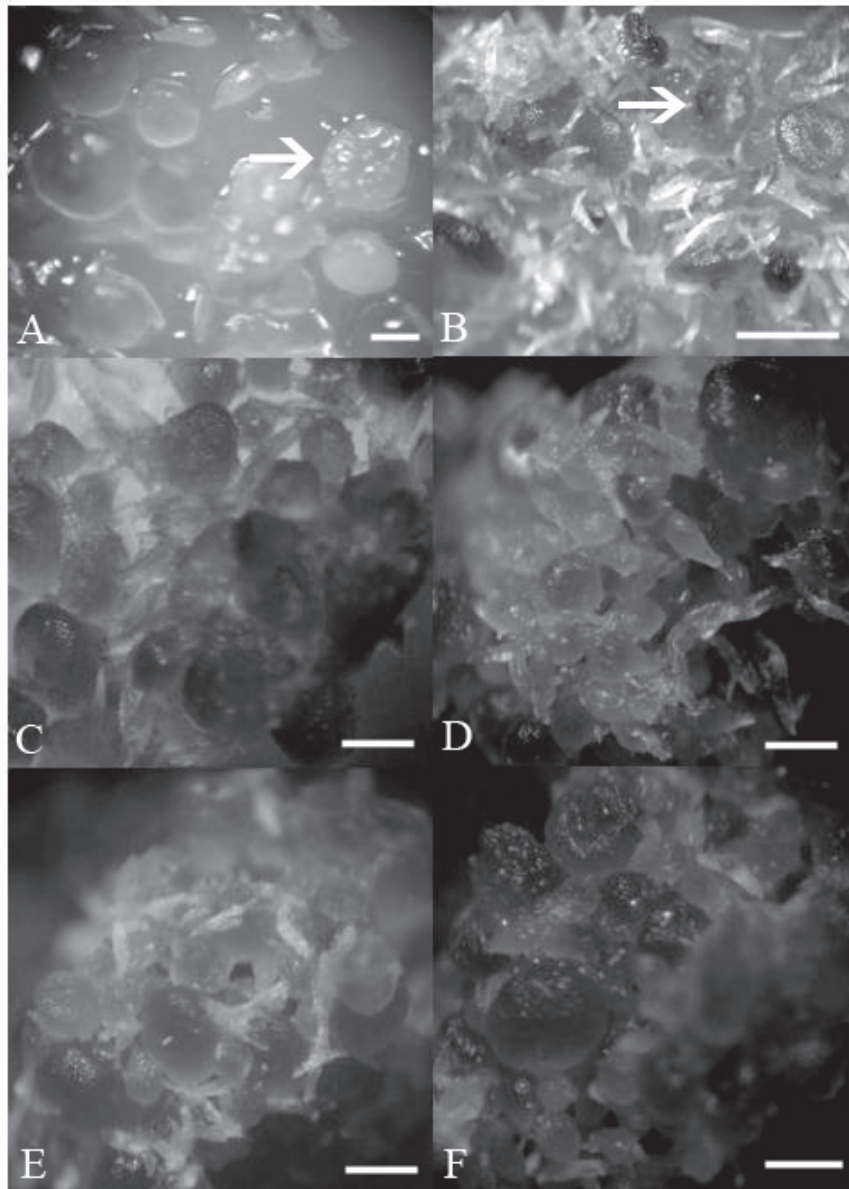
sementes de orquídeas apresentam, em geral, um padrão bastante uniforme de germinação e desenvolvimento, iniciando-se por intumescimento da semente que acarreta o rompimento do tegumento seminal e a liberação do embrião, o qual segundo Arditti (1992) se desenvolve em uma estrutura tuberiforme, geralmente clorofilada, denominada protocormo. A germinação assimbiótica da espécie *Baptistonia pubes* (Lindley) Chiron & V.P. Castro (*Oncidium pubes* Lindley) também ocorreu aos 15 dias de cultivo em meio ½ MS (modificado), porém a taxa germinativa foi de apenas 2,6% (FERREIRA et al., 2010). Para a espécie *Hadrolaelia tenebrosa* (Rolfé) Chiron & V.P. Castro (Orchidaceae), os meios MS e Knudson beneficiaram a germinação, apresentando respectivamente, 61 e 67% (SUZUKI et al., 2009).

Aos 30 dias de cultivo, as sementes da espécie *C. labiata* e dos híbridos *C. violacea* estriata pedrinho x *C. violacea* pedrinho e *C. violacea* pedrinho x *C. violacea* H21/06-142, cultivadas em meio MS com a ½ da força iônica e completo, apresentavam-se em forma de esférulas e algumas sementes já formavam corpos de protocormos, o que demonstra a saída do embrião da testa (Figura 1). Resultados distintos foram obtidos por Martini et al. (2001), as quais relataram que sementes de *Gongora quinquenervis* Ruiz e Pavón, quando cultivadas em meio Knudson, apresentaram desenvolvimento similar às cultivadas em meio MS até 15 dias de cultivo, porém deste período em diante, seguiu-se um rápido declínio da cultura em meio Knudson, caracterizado pela total necrose dos embriões aos 22 dias de cultivo.

As sementes de *C. labiata* e dos híbridos *C. violacea* estriata pedrinho x *C. violacea* pedrinho e *C. violacea* pedrinho x *C. violacea* H21/06-142, cultivadas em meio Knudson com a ½ da força iônica e completo, apresentaram formação de protocormos após 30 dias de cultivo *in vitro*, porém estes se mostraram menores que os desenvolvidos no meio ½ MS. Os protocormos cultivados nos meios nutritivos ½ Knudson e Knudson completo apresentaram-se menores, provavelmente, devido ao fato de que o meio Knudson além de não conter vitaminas e aminoácidos em

sua composição, apresenta também uma concentração salina mais baixa que a do meio MS, sendo um meio nutritivo de composição mais simples. Apesar dos protocormos cultivados em meio Knudson terem sido menores, o seu desenvolvimento ocorreu de forma mais rápida que os

obtidos por Faria & Stancato (1998), os quais relataram que sementes de diferentes espécies de orquídeas, quando cultivadas em meio Knudson, apresentam formação de protocormos e desenvolvimento de plantas de dois a três meses de cultivo após a semeadura *in vitro*.



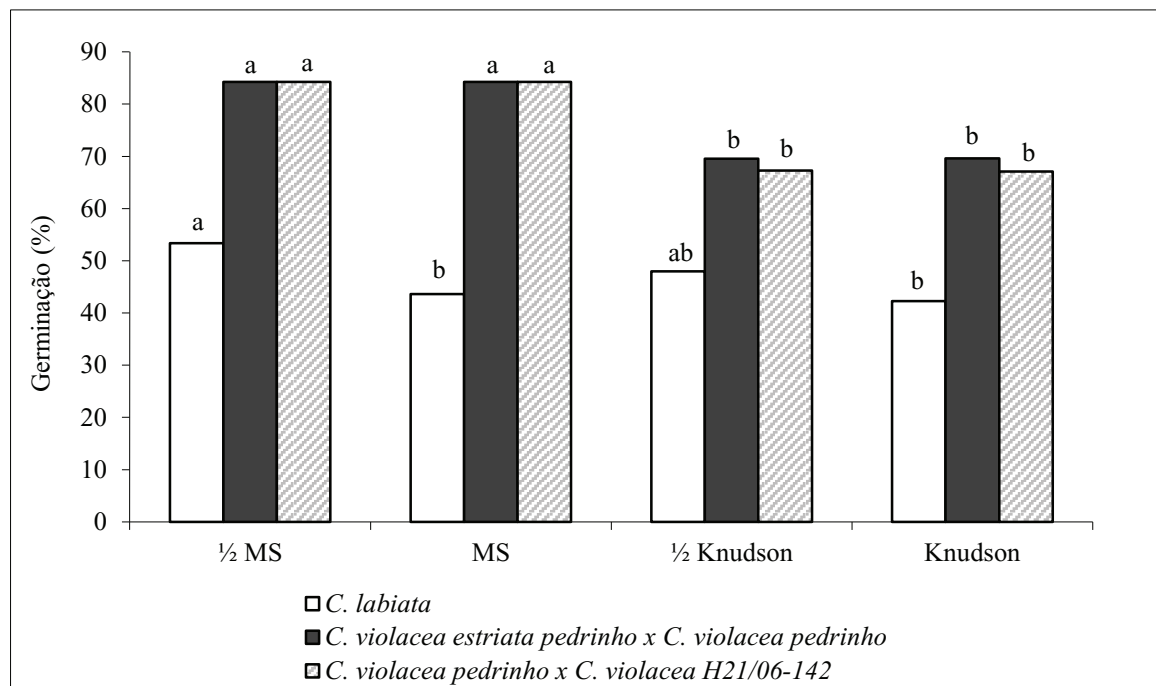
**FIGURA 1** – Formação de protocormos aos 30 dias de cultivo: *Cattleya labiata* Lindley em meio 1/2 MS (A) e MS completo (B); *Cattleya violacea* estriata pedrinho x *Cattleya violacea* pedrinho em meio 1/2 MS (C) e MS completo (D); *Cattleya violacea* pedrinho x *Cattleya violacea* H21/06-142 em meio 1/2 MS (E) e MS completo (F). Seta: protocormos. Barra: 200 μm.

A família Orchidaceae apresenta imensa diversidade taxonômica, bioquímica, fisiológica e genética, portanto não existe um meio padrão que possibilite o sucesso na micropropagação de todas as espécies ou variedades (KERBAUY, 2011), sendo necessário determinar qual a concentração que mais se adéqua as exigências de cada espécie (FRÁGUAS et al., 2003). Além das peculiaridades que cada espécie apresenta, existem fatores como os nutrientes utilizados (SUZUKI et al., 2009), fonte e concentração de carboidratos (BESSON et al., 2010), pH (FERREIRA et al., 2010), dentre outros, que também podem influenciar a germinação e o crescimento.

Durante 45 dias de avaliação os meios MS e Knudson, ambos com metade da força iônica, favoreceram o desenvolvimento dos embriões de *C. labiata*, o que resultou em um maior percentual de germinação das sementes. Apesar de não haver diferenças estatísticas entre esses dois meios na fase de germinação da espécie, foi observado que nos estádios posteriores, o

meio ½ MS proporcionou desenvolvimento mais rápido e melhor definição morfológica dos protocormos. Já para os híbridos *C. violacea* estriata pedrinho x *C. violacea* pedrinho e *C. violacea* pedrinho x *C. violacea* H21/06-142, os maiores percentuais de germinação foram obtidos nas sementes cultivadas nos meios ½ MS e MS completo (Figura 2). Estudos com *Nidularium fulgens* Lemaire demonstraram que o meio MS completo e com a metade de sua força iônica (½ MS), também proporcionaram melhor desenvolvimento comparando ao meio Knudson completo e com metade da força iônica (PAIVA et al., 2006).

A conversão dos protocormos em plantas nos híbridos *C. violacea* estriata pedrinho x *C. violacea* pedrinho (Figura 3A e 3B) e *C. violacea* pedrinho x *C. violacea* H21/06-142 (Figura 3C e 3D) foi observada aos 60 dias de cultivo, quando em meio ½ MS e MS completo, os protocormos formavam as primeiras folhas, com posterior formação de raízes.

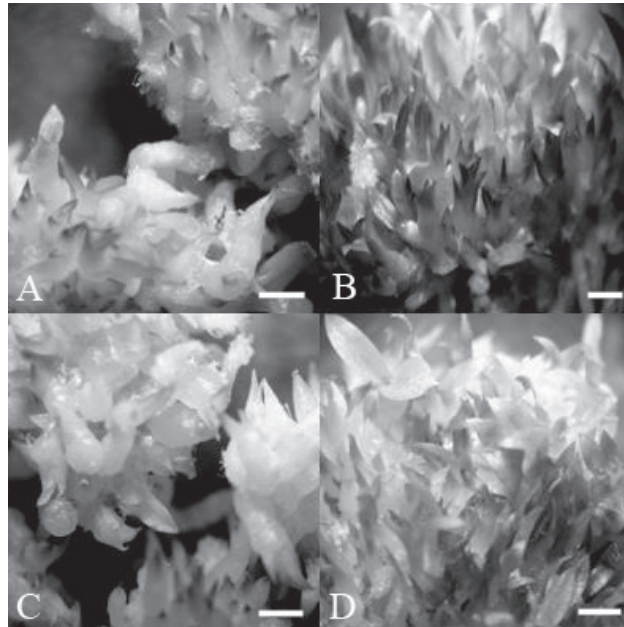


**FIGURA 2** – Percentual de germinação do gênero *Cattleya labiata* Lindley e dos híbridos *Cattleya violacea* estriata pedrinho x *C. violacea* pedrinho e *C. violacea* pedrinho x *C. violacea* H21/06-142 aos 45 dias de cultivo. Nota: médias seguidas de mesma letra entre os meios não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

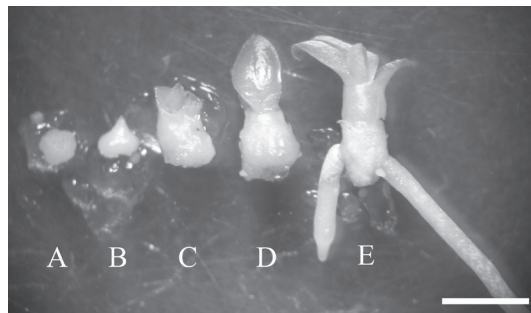
Para a espécie *C. labiata*, a conversão dos protocormos em plantas foi observada aos 90 dias de cultivo, quando houve formação dos primórdios foliares e radiculares, no meio MS com  $\frac{1}{2}$  da força iônica (Figura 4).

Aos 105 dias, notou-se que os protocormos cultivados em meio MS apresentavam-se intumescidos e alguns já apresentavam folhas, enquanto que no meio  $\frac{1}{2}$  MS, a maioria dos protocormos já tinha sido

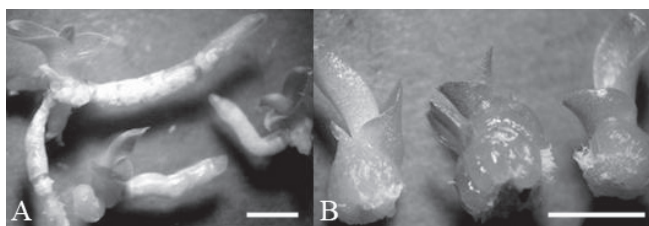
convertidos em plântula, contendo parte aérea e raízes bem desenvolvidas (Figura 5). Resultados semelhantes foram observados nas espécies *Oncidium nanum* e *C. forbesii*, as quais quando cultivadas em meio MS completo apresentaram desenvolvimento vegetativo mais lento quando comparado ao meio  $\frac{1}{2}$  MS e ao meio com formulação simplificada, contendo apenas  $3,0 \text{ mL L}^{-1}$  de adubo comercial NPK (6-6-8) (UNEMOTO et al., 2007).



**FIGURA 3** – Híbridos de *Cattleya* aos 60 dias de cultivo: *Cattleya violacea* estriata pedrinho x *Cattleya violacea* pedrinho em meio  $\frac{1}{2}$  MS (A) e MS completo (B); *Cattleya violacea* pedrinho x *Cattleya violacea* H21/06-142 em meio  $\frac{1}{2}$  MS (C) e MS completo (D). Barra: 1mm.



**FIGURA 4** – Fases de desenvolvimento de *Cattleya labiata* Lindley em meio  $\frac{1}{2}$  MS: semente intumescida aos 15 dias (A); protocormo aos 30 dias (B); protocormo iniciando o desenvolvimento de folíolos (C); protocormo com primeiro folíolo (D); planta formada aos 90 dias de cultivo (E). Barra: 3 mm.



**FIGURA 5** – Plântulas de *Cattleya labiata* Lindley aos 105 dias de cultivo: meio  $\frac{1}{2}$  MS (A); meio MS completo (B). Barra: 1 mm.

Os resultados obtidos nesse trabalho evidenciam que as orquídeas apresentam uma exigência nutricional baixa quando comparada com outras plantas, não sendo necessário utilizar meio de cultivo com altas concentrações de nutrientes. O fato de estar em um meio de cultivo onde a concentração de nutrientes é menor (meio  $\frac{1}{2}$  MS), provavelmente favoreceu ou induziu o desenvolvimento das raízes, que por sua vez aumentaram a superfície de absorção de nutrientes no meio de cultivo.

### CONCLUSÕES

Os meios MS e Knudson, com metade da força iônica ( $\frac{1}{2}$  MS e  $\frac{1}{2}$  Knudson) mostram-se equivalentes no início da germinação de *C. labiata*, porém, em estádios mais avançados da germinação, o meio MS com a  $\frac{1}{2}$  da concentração dos sais, mostrou-se mais eficiente.

O meio MS completo e com metade da força iônica, proporcionaram durante a fase de germinação melhor desenvolvimento dos híbridos *Cattleya violacea* estriata pedrinho x *Cattleya violacea* pedrinho e *Cattleya violacea* pedrinho x *Cattleya violacea* H21/06-142, consequentemente, mais eficiente do que o meio Knudson.

### AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal Rural de Pernambuco pelo apoio institucional e ao Banco do Nordeste pelo apoio financeiro.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVAREZ-PARDO, V.; FERREIRA, A. G. Armazenamento de sementes de orquídeas. **Revista Brasileira de Sementes**. 28(2):92-98, 2006.
- ARDITTI, J. **Fundamentals of orchid biology**. New York: John Wiley e Sons, 1992. 691p.
- ARDITTI J.; ERNST, R. **Micropropagation of orchids**. New York: John Wiley e Sons, 1993. 682p.
- ASSIS, E.; SILVA, F. A. Z. **Assistat 7.7 beta**. DEAG-CTRN-UFCG, Campina Grande, 2013.
- BESSON, J. C. F.; OLIVEIRA, L. K. Fontes e concentrações de carboidratos no crescimento vegetativo e no enraizamento *in vitro* de *Miltonia flavescens* Lindl. **Revista Brasileira de Biociências**. 8(1):9-13, 2010.
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPQ, v.1, p.87-132, 1998.
- COSTA, M. A. P. de; PEREIRA, M. J.; ROCHA, M. A.; HANSEN, D. de S.; ALVES, R. M. de O.; SOUZA, E. H. de; GARCIA, R. R. Micropropagação de orquídea. In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. da S. **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, cap.14, p.351-370, 2009.
- FARIA, R. T. de; STANCATO, G. C. Orquídea – semeadura. In: TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1998. p. 37-39. (Boletim técnico, 174).
- FERREIRA, A. W. C.; LIMA, M. I. S.; FARIA, R. T. de; RIBEIRO, J. P. N.; CASALI, C. A. Propagação *in vitro* de *Baptistonia pubes* (Lindl.) Chiron & V. P. Castro (*Oncidium pubes* Lindl.) (Orchidaceae). **Acta Botanica Brasílica**. 24(3):636-639, 2010.

- FOCHO, D. A.; FONGE, B. A.; FONGOD, A. G. N.; ESSOMO, S. E. A study of the distribution and diversity of the family Orchidaceae on some selected lava flows of Mount Cameroon. **African Journal of Environmental Science and Technology**. 4(5):263-273, 2010.
- FRÁGUAS, C. B.; VILLA, F.; SOUZA, A. V. DE; PASQUAL, M.; DUTRA, L. F. Crescimento *in vitro* de plântulas de orquídea oriundas da hibridação entre *Cattleya labiata* e *Laelia itambana*. **Revista Ceres**. 50(292):719-726, 2003.
- KERBAUY, G. B. Micropropagação comercial de orquídeas: conquistas, desafios e perspectivas. In: GERALD, L. T. S. **Biofábrica de plantas: produção industrial de plantas *in vitro***. São Paulo: Antiqua, cap.10, p.178-205, 2011.
- KRAUS, J. E.; KERBAUY, G. B.; MONTEIRO, W. R. Desenvolvimento de protocormos de *Catasetum pileatum* Rchb. f. *in vitro*: aspectos estruturais e conceituais. **Hoehnea**. 33(2):177-184, 2006.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495p.
- 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**. 36(10):1319-1324, 2001.
- MONTEIRO, S. H.N.; SILVA, M. F. F.; SECCO, R. S. O gênero *Gealandra* (Orchidaceae) na Amazônia Brasileira. **Acta Amazonica**. 39(1):21-34, 2009.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**. 15:473-497, 1962.
- PAIVA, P. D. DE O.; NAVES, V. C.; PAIVA, R.; PASQUAL, M. Avaliação de diferentes formulações de sais minerais para a micropropagação de *Nidularium fulgens* Lam. **Plant Cell Culture & Micropropagation**. 2(1):9-14, 2006.
- SEGEREN, M. I. Micropropagação *in vitro* de flores e plantas ornamentais. In: GERALD, L. T. S. **Biofábrica de plantas: produção industrial de plantas *in vitro***. São Paulo: Antiqua, cap.8, p.134-147, 2011.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005. 640p.
- STANCATO, G. C.; BEMELMANS, P. F.; VEGRO, C. L. R. Produção de mudas de orquídeas a partir de sementes *in vitro* e sua viabilidade econômica: estudo de caso. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. 7(1):25-33, 2001.
- 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**. 36(4):657-666, 2009.
- ULISSES, C.; SOARES, G. **Aclimatização de mudas de orquídeas na agricultura familiar**: Biotecnologia, gestão e inovação na floricultura em Pernambuco. Recife: FASA, 2013. 105p.
- UNEMOTO, L. K. FARIA, R. T. DE; VIEIRA, A. O. S.; DALIO, R. J. D. Propagação *in vitro* de orquídeas brasileiras em meio de cultura simplificado. **Revista Brasileira de Agrociência**. 13(2):267-269, 2007.