

CONCENTRAÇÃO DE SACAROSE E ÍNDICES DE pH NO CRESCIMENTO *In Vitro* DE *Oncidium flexuosum* SIMS. (ORCHIDACEAE)

Letícia Érica Caovila*
Patrícia Franco Gianini**
Cristiano Pedroso de Moraes***

RESUMO: O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de sacarose e índices de pH no crescimento *in vitro* de *Oncidium flexuosum*. As plântulas foram cultivadas em meio de cultura MS/2 para testar os efeitos da sacarose (0, 15, 30, 45 e 60 gL⁻¹) e pH (5,0, 5,8, e 6,6) no seu desenvolvimento, em função das variáveis: altura da parte aérea (APA), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CMR), número de folhas (NF) e massa fresca (MF). As concentrações de 15 e 30 gL⁻¹, independentemente do pH, foram as mais eficientes para a cultura *in vitro* da espécie, pois promoveram um aumento no comprimento das raízes, altura e massa fresca das plântulas. O pH foi significativo somente em combinação com 15 gL⁻¹ de sacarose para o comprimento da maior raiz e massa fresca.

PALAVRAS-CHAVE: Oncidiinae; Orquídea; Propagação *in vitro*.

SUCROSE CONCENTRATION AND pH INDEXES IN *In Vitro* GROWTH OF *Oncidium flexuosum* SIMS. (ORCHIDACEAE)

ABSTRACT: The effect of different concentrations of sucrose and pH indexes in the *in vitro* growth of *Oncidium flexuosum* is evaluated. Plants were cultivated in a MS/2 culture medium to test the effects of sucrose (0, 15, 30, 45, 60 gL⁻¹) and pH (5.0, 5.8, 6.6) on their development with respect to the variables: height of aerial part (HAP), number of roots (NR), length of the greatest root (LGR), number of leaves (NL) and fresh mass (FM). Regardless of pH, concentrations 15 and 30 gL⁻¹ were the most efficient for the species's *in vitro* culture since they enhanced increase in root length, height of plant and fresh mass. Further, pH was significant only when combined to 15 gL⁻¹ of sucrose for the length of the greatest root and fresh mass.

* Discente do Curso de Especialização em Biotecnologia da Centro Universitário Hermínio Ometto (UNIARARAS), Araras, (SP), Brasil.

** Bióloga pelo Centro Universitário Hermínio Ometto de Araras (UNIARARAS), Araras (SP), Brasil

*** Docente Doutor em Biologia Vegetal; Docente no Centro Universitário Hermínio Ometto (UNIARARAS), Araras, (SP), Brasil; E-mail: pedroso@uniararas.br

KEY WORDS: Oncidiinae; Orchids; *in vitro* propagation.

INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae é uma das mais numerosas e especializadas do Reino Plantae. O grupo compõe-se de aproximadamente 850 gêneros e 25.000 espécies de plantas epífitas, rupícolas ou terrestres (PRIDGEON et al., 2009), apresentando formas, cores e tamanhos muito variáveis (PINHEIRO et al., 2004), o que propicia ampla utilização na horticultura ornamental (PEDROSO-DE-MORAES, 2000).

No Brasil foram descritos 190 gêneros e 2.400 espécies (BARROS, 1996). Dentre as Orchidaceae nacionais de expressão comercial, encontram-se as do gênero *Oncidium* Swartz, o qual se apresenta amplamente distribuído na América Tropical (DRESSLER, 1993). O Brasil é seu centro de diversidade com, aproximadamente, 100 espécies, das 315 pertencentes ao gênero (SENGHAS, 1998; 2000).

Um de seus representantes com maior apelo horticultural é *Oncidium flexuosum* Sims. utilizado comercialmente tanto como planta envasada, quanto para corte (PEDROSO-DE-MORAES et al., 2007). Além disso, tal planta apresenta ampla ação cicatrizante devido à sua grande quantidade de flavonoides detectados em suas folhas (GASPI et al., 2011).

Para tal espécie, um dos entraves para a propagação seminal é o fato de apresentar sistema de autoincompatibilidade genética, que, portanto, limita a obtenção de autofecundação, que são normalmente utilizados para a obtenção de grande quantidade de sementes em orquídeas (PEDROSO-DE-MORAES, 2000). Sob este aspecto a melhoria das técnicas de propagação *in vitro* da espécie é premente para que esta se apresente economicamente rentável.

Nesse ínterim, para orquídeas em geral, o meio nutritivo a ser utilizado precisa fornecer todas as substâncias essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plântulas *in vitro* (STEFANELLO et al., 2009). Assim, torna-se necessário determinar as condições ótimas requeridas de nutrientes, pH do meio de cultura e carboidratos para cada espécie e variedade (ARAÚJO et al., 2005).

Sob esse aspecto a sacarose é um componente importante no meio de cultura servindo como fonte de carbono e energia, pois plântulas cultivadas *in vitro*

são consideradas parcialmente autotróficas (DEBERGH, 1991; KOZAI, 1991) e o monitoramento contínuo do pH de uma solução nutritiva é essencial, uma vez que uma variação do pH do meio pode indisponibilizar nutrientes essenciais da solução para a planta devido à precipitação (SARRUGE, 1975).

Assim, o objetivo nesse estudo foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de sacarose e níveis de pH no crescimento *in vitro* de *Oncidium flexuosum*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CULTIVO

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Botânica e Análises Ambientais do Centro Universitário Hermínio Ometto, Araras (SP), Brasil, localizado nas coordenadas: 22°33' 18,00" S e 47°17' 02,85" O, sob elevação de 629 m.

As sementes de *Oncidium flexuosum* foram retiradas de frutos maduros e, após passarem pelo processo de assepsia, foram inoculadas em frascos de vidro (capacidade 250 mL), contendo 50 mL de meio de cultura Murashige & Skoog (MS) (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com metade da concentração de sais (MS/2) suplementado com sacarose (30 g.L⁻¹), vitaminas do MS e ágar (6.5 g.L⁻¹). As culturas foram mantidas em B.O.D. a 25 ± 2 °C, com fotoperíodo de 16 horas, sob irradiância de 120 μmol.m⁻².s⁻¹.

2.2 EFEITO DA SACAROSE E DO pH NO CRESCIMENTO *IN VITRO* DE PROTOCORMOS

Plântulas com aproximadamente 0,3 cm e 0,001 g, obtidos a partir da germinação foram utilizados para os experimentos. Estas foram inoculados em frascos de vidro (250 mL) contendo 50 mL de meio de cultivo, suplementado com diferentes concentrações de sacarose (0, 15, 30, 45 e 60 g.L⁻¹) e pH (5,0, 5,8 e 6,6) ajustado utilizando hidróxido de sódio (NaOH) ou ácido clorídrico (HCl) a 1N, antes da adição do ágar (STEFANELLO et al., 2009).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em fatorial 5 x 3, assim especificados: cinco concentrações (0, 15, 30, 45 e 60 g.L⁻¹) e três valores de pH (5,0, 5,8 e 6,6) com cinco repetições. A unidade experimental consistiu de um frasco com 25 plântulas. As plântulas permaneceram durante 180 dias em cultivo, com um subcultivo aos 90 dias. Foi efetuada a avaliação das variáveis: altura da parte aérea (APA) (cm), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CMR) (cm), número de folhas (NF) e massa fresca (MF) (g) (STEFANELLO et al., 2009). Os resultados foram submetidos à análise de regressão polinomial utilizando-se o aplicativo estatístico BioEstat 5.3 (AYRES et al., 2007). Para escolha do modelo de regressão que melhor se ajustasse aos dados observados, levou-se em consideração o fato de o desvio da regressão ser não significativo e o modelo de maior ordem apresentar grau significativo e, por último, o valor do coeficiente de determinação (R²) (FERNANDES et al., 2012).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 180 dias de cultivo *in vitro*, os resultados obtidos evidenciaram que a concentração de 45 g.L⁻¹ de sacarose interagindo com o pH 6,6 (R² = 0,8917, $p < 0,05$), seguido pelo nível de pH 5,0 (R² = 0,9544, $p < 0,05$) apresentaram efeitos significativos para a variável Número de folhas (NF), originadas pela orquídea *Oncidium flexuosum*. Contudo, o meio contendo 60 g.L⁻¹ de sacarose com pH ajustado para 5,0 revelou o pior resultado (Figura 1A).

A maior parte das espécies de orquídeas desenvolve-se bem em pHs entre 4,8 e 5,2, com amplitude entre os pHs 3,6 e 7,6 (ARDITTI; ERNST, 1984). Entretanto, para o crescimento da maioria das espécies de orquídeas, a faixa que revela o melhor desenvolvimento de plântulas é a de 5,0 a 6,5 (KÄMPF, 2000; PICCOLI et al., 2014). Tal afirmação corrobora os resultados obtidos para NF no que tange à amplitude de pH evidenciado nos dois melhores resultados obtidos (Figura 1A) e sugere que o fator que mais influencia tal variável é a concentração de sacarose utilizada.

Carboidratos podem provocar alterações na expressão gênica similares às provocadas pelos hormônios. A percepção da sinalização dos açúcares por

sensores proteicos provoca uma cascata de eventos a nível celular, alterando a expressão gênica e as atividades enzimáticas, tendo efeitos sobre a germinação, o crescimento vegetativo, o desenvolvimento reprodutivo e a formação das sementes (SMEEKENS, 2000; STEFANELLO et al., 2009). Em concordância a tais sugestões, relata-se os resultados obtidos para *Nephrolepis biserrata* (Sw.) Schott, para a qual a interação da sacarose em concentrações de 15 e 45 gL⁻¹ e diferentes níveis de pH obtiveram para a variável número de folhas, valores 2,3 pontos acima do valor médio do tratamento desprovido de sacarose com nível de pH ajustado para 5,8 (AMBRÓSIO; MELO, 2004). Contudo, tais resultados discordam dos encontrados para protocormos da orquídea *Miltonia flavescens* Lindl. (Oncidiinae), submetida a idênticas condições experimentais deste trabalho, em que a interação entre as concentrações de sacarose e os níveis de pH utilizados não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos (STEFANELLO et al., 2009).

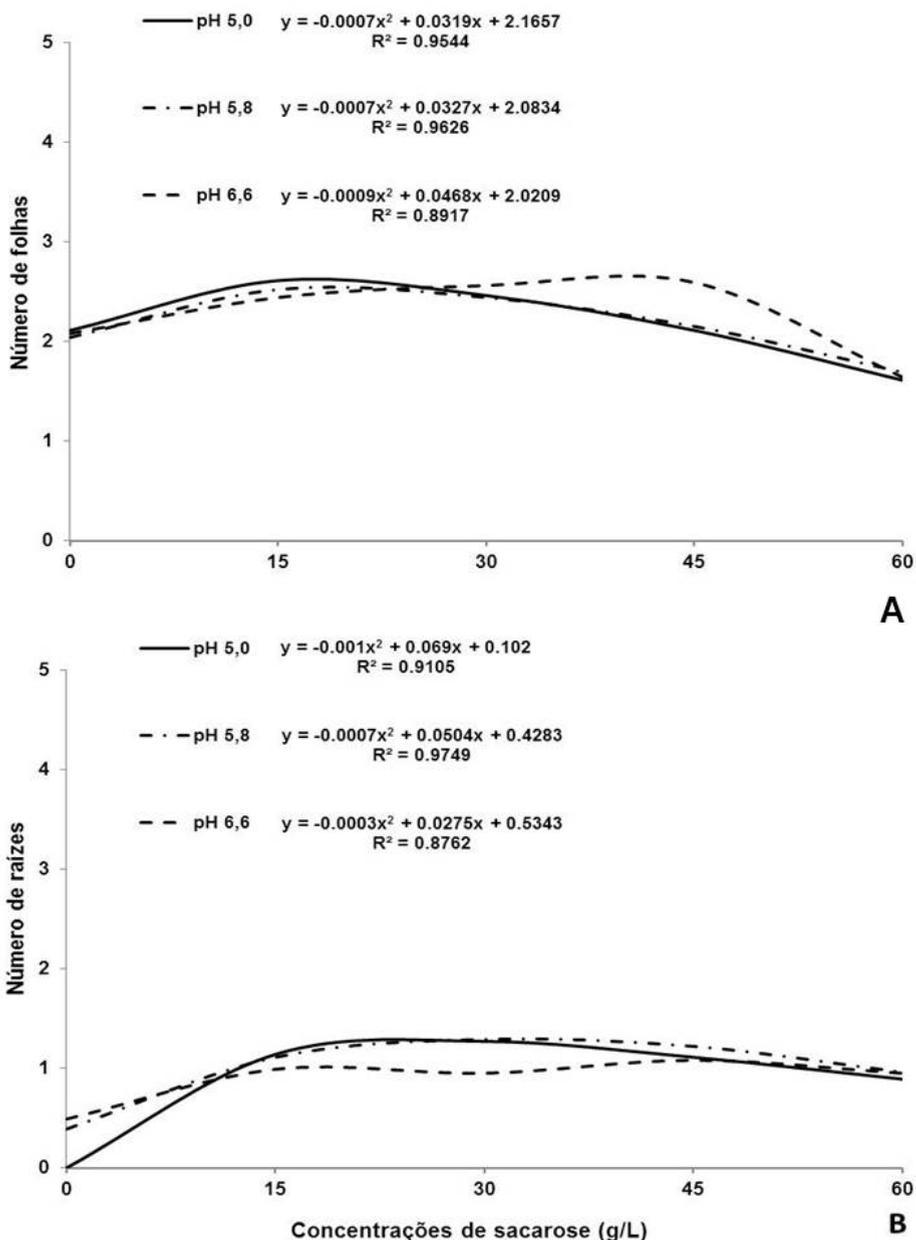


Figura 1. Regressões polinomiais realizadas para as variáveis número de folhas (NF) e número de raízes (NR) de plântulas de *Oncidium flexuosum* Sims, após 180 dias de cultivo em meio de cultura MS/2 com diferentes concentrações de sacarose e níveis de pH.

Com relação ao número de raízes (NR), a concentração de 30 gL⁻¹ de sacarose interagindo com o nível de pH 5,8 ($R^2 = 0,9749$, $p < 0,05$), seguido pelo nível de 5,0 ($R^2 = 0,9105$, $p < 0,05$), influenciaram positivamente gêneses radiciais. Contudo, a ausência de sacarose promoveu em todos os tratamentos o surgimento de plântulas detentoras de menor número de raízes (Figura 1B). Dessa forma, a análise de regressão polinomial para NR demonstrou que os resultados obtidos neste trabalho discordam apenas parcialmente dos descritos para *M. flavescens* e *Miltonia spectabilis moreliana* (PEDROSO-DE-MORAES et al., 2015). Para as espécies, os níveis de pH não exerceram influência em NR, mas, todas as concentrações de sacarose utilizadas no experimento incrementaram a gênese radicial, sendo que a ausência do carboidrato fez com que as plantas apresentassem um baixo nível de enraizamento (STEFANELLO et al., 2009). Também é válido ressaltar que para a orquídea *Diuris longifolia* R. Br. foi verificado que o enraizamento foi incrementado pelo aumento da concentração de sacarose para 40 gL⁻¹ no meio de cultivo com pH ajustado para 5,8 (COLLINS; DIXON, 1992). Ainda, com relação à influência do pH, estudos evidenciaram efeito significativo na formação de folhas e raízes de híbridos de *Cymbidium*. Nesta espécie, o pH 5,3 mostrou ser superior ao pH 6,3 no número total de folhas e raízes produzidas a partir de protocormos inoculados *in vitro* (SILVA et al., 2006).

A concentração de sacarose de 15 gL⁻¹, interagindo com o nível de pH 5,8 ($R^2 = 0,8051$, $p < 0,05$), seguida pela de 30 gL⁻¹ pH 5,0 ($R^2 = 0,8339$, $p < 0,05$) propiciaram o maior comprimento radicial, enquanto que a ausência do carboidrato originou as menores raízes para a variável comprimento da maior raiz (CMR) (Figura 2A). Tais resultados são similares os encontrados para *M. flavescens*, para a qual as mesmas concentrações de sacarose e níveis de pH apresentaram os melhores resultados (STEFANELLO et al., 2009).

Com relação à sacarose, concentrações de 20 a 40 g.L⁻¹ são as mais comumente usadas em estudos de cultivo *in vitro* de orquídeas (ARDITTI, 1974), principalmente na promoção do crescimento radicial (PEDROSO-DE-MORAES, 2000). Tais concentrações de carboidratos referem-se à capacidade que os mesmos apresentam de interferirem em processos metabólicos da planta, dada que esta é a única fonte de carboidrato para as plântulas, pois dentro do frasco há uma

baixa concentração de CO₂ e baixa intensidade luminosa, fazendo com que a taxa fotossintética seja baixa, não sendo suficiente para suprir as necessidades da planta (KOZAI, 1991; CALDAS et al., 1998).

É válido salientar que o tipo do sistema radicular, obtido no enraizamento *in vitro*, também determina o sucesso do transplante, sendo as raízes mais curtas as mais adequadas, uma vez que se apresentam em fase de crescimento ativo, facilitando a aclimatização da planta (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Sob este aspecto, ressalta-se que para algumas espécies de orquídeas, diferentes concentrações de sacarose presentes em meios de cultivo não promovem o crescimento radicial esperado (PEDROSO-DE-MORAES, 2000). Tal constatação é válida para *Dendrobium nobile* Lindl. para a qual o acréscimo de 5, 10, 20, 30 e 60 gL⁻¹ de sacarose no meio de cultura, com pH ajustado para 5,8, não influenciou o enraizamento *in vitro* das plantas (FARIA et al., 2004).

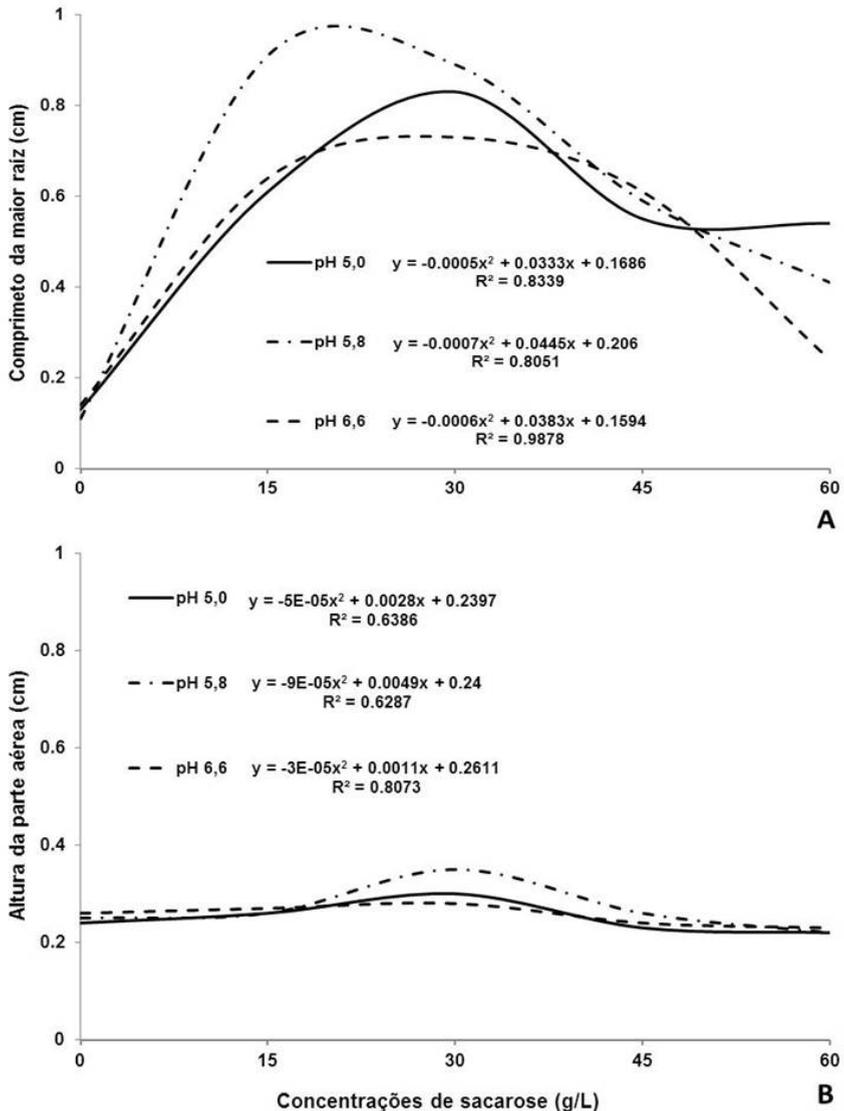


Figura 2. Regressões polinomiais para as variáveis comprimento da maior raiz (CMR) (cm) e altura da parte aérea (APA) (cm) de plântulas de *Oncidium flexuosum* Sims., após 180 dias de cultivo em meio de cultura MS/2 com diferentes concentrações de sacarose e níveis de pH.

Para a variável Altura da Parte Aérea (APA), o pH de 5,8 apresentou interação significativa com a concentração de 30 g·L⁻¹ de sacarose ($R^2 = 0,6287$,

$p < 0,05$), evidenciando os melhores resultados para a variável (Figura 2B). Tais resultados obtidos estão parcialmente de acordo com os descritos para *Dendrobium nobile* Lindl., para o qual a suplementação do meio de cultivo com 60 gL^{-1} de sacarose em pH 5,8 proporcionou maior crescimento da parte aérea (FARIA et al., 2004). Entretanto, discordam dos encontrados para *M. flavescens*, onde não foi observado efeito do pH para a variável, porém com a suplementação do meio de cultivo com 15 e 30 gL^{-1} de sacarose foi observado maior desenvolvimento numérico para esta variável (STEFANELLO et al., 2009). Contudo, salienta-se que deve ser utilizada a menor concentração possível de sacarose para o desenvolvimento da parte aérea em plantas cultivadas *in vitro*, pois o acúmulo de açúcares nas folhas inibe o processo fotossintético (DIGNART et al., 2009; KOZAI, 1991). Ainda, com relação à influência do pH na formação da parte aérea, em investigação realizada em híbridos de *Cymbidium*, foi evidenciado efeito significativo do pH na formação de folhas, as quais exerceram influência direta nesta variável (SILVA et al., 2006). Vale salientar que pHs entre 5,8 e 6,0 apresentam os melhores resultados culturais para o crescimento da parte aérea para os representantes da família Orchidaceae, sejam eles terrestres, litófitos ou epífitos (BESSON et al., 2010; CUNHA et al., 2011; GALE et al., 2010; KEEL; ZETTLER; KAPLIN, 2011; LIAO et al., 2011; ROY et al., 2011; SOARES et al., 2010; SOUTO et al., 2010).

Os maiores valores para a massa fresca foram obtidos para plântulas cultivadas em meio suplementado com 15 gL^{-1} de sacarose e pH 5,8 ($R^2 = 0,7518$, $p < 0,05$) (Figura 3). Tais resultados estão totalmente de acordo aos encontrados para *M. flavescens*, para as mesmas condições experimentais (STEFANELLO et al., 2009). Contudo, diferem dos encontrados para *Oncidium varicosum*, para o qual a concentração de 60 gL^{-1} de sacarose foi a melhor para todas as variáveis avaliadas (REGO-OLIVEIRA et al., 2003). Ainda, no que concerne à concentração de sacarose, é necessário ressaltar que plantas propagadas *in vitro* necessitam de uma fonte de energia externa, pois, nessa fase são praticamente heterotróficas, não encontrando as condições favoráveis para realizar a fotossíntese (CALDAS et al., 1998).

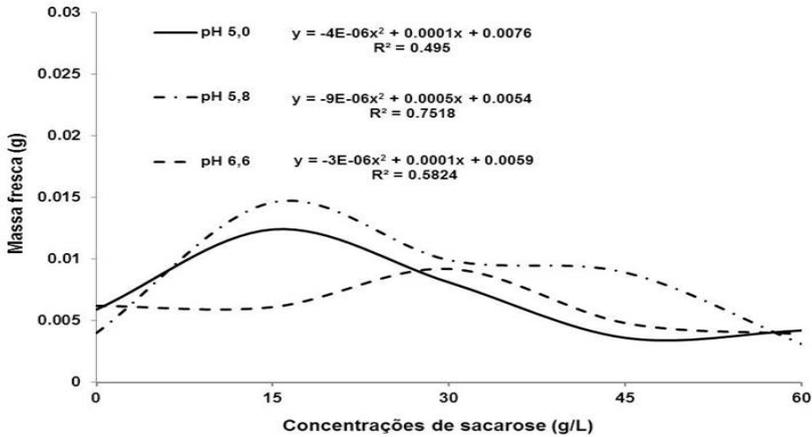


Figura 3. Regressão polinomial para a variável massa fresca (MF) (g) de plântulas de *Oncidium flexuosum* Sims., após 180 dias de cultivo em meio de cultura MS/2 com diferentes concentrações de sacarose e níveis de pH.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As concentrações de sacarose de 15 e 30 gL⁻¹ mostram-se mais adequadas para o crescimento *in vitro* da espécie, induzindo maior número de raízes, a formação de raízes com maiores comprimentos, aumentando a altura de parte aérea e do peso da matéria fresca, quando associados, principalmente, ao nível de pH de 5,8. Somente para a variável número de folhas obteve-se melhores resultados na concentração de 45 gL⁻¹ de sacarose interagindo com o pH 6,6.

REFERÊNCIAS

- AMBRÓSIO, S. T.; MELO, N. F. de. Interaction between sucrose and pH during *in vitro* culture of *Nephrolepis biserrata* (Sw.) Schott (Pteridophyta). *Acta Botanica Brasília*, v. 18, p. 809-813, 2004.
- ARAÚJO, A. G.; PASQUAL, M.; RODRIGUES, V. A.; SILVA, A. B.; SOARES, G. A. Concentração de KNO₃ e NH₄NO₃ no crescimento *in vitro* de plântulas de orquídea. *Plant Cell Culture & Micropropagation*, v. 1, p. 31-36, 2005.

ARDITTI, J. **Orchid Biology**: Reviews and perspectives I. [s.l.]: Joseph Arditti. 1974. 293p.

ARDITTI, J.; ERNST, R. Physiology of germinating orchid seeds. In: ARDITTI, J. (Ed.). **Orchid biology**: reviews and perspectives III. New York: Cornell University Press. 1984. v. 2, 293p.

AYRES, M. et al. **BioEstat**: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. 5. ed. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília; CNPq, 2007. 321p.

BARROS, F. Notas taxonômicas para espécies brasileiras dos gêneros *Epidendrum*, *Platystele*, *Pleurothallis* e *Scaphyglottis* (Orchidaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 10, p. 139-151, 1996.

BESSON, J. C. F. et al. Fontes e concentrações de carboidratos no crescimento vegetativo e no enraizamento *in vitro* de *Miltonia flavescens* Lindl. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, p. 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-SPI/Embrapa-CNPq, 1998. v. 1, p. 87-132.

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.

CUNHA, T. et al. Desenvolvimento *in vitro* de *Laeliocattleya schilleriana* Rolfe em meios de cultivo simplificados. **Scientia Plena**, v. 7, p. 1-5, 2011.

DEBERGH, P. C. Control of *in vitro* plant propagation. In: CROCOMO, O. J.; SHARP, W. R. (Ed.). **Biotecnologia para produção vegetal**. Piracicaba: CEBTEC/FEALQ, 1991. p. 3-8.

DIGNART, S. L.; CASTRO, E. M.; PAQUAL, M.; FERRONATO, A.; BRAGA, F. T.; PAIVA, R. Luz natural e concentrações de sacarose no cultivo *in vitro* de *Cattleya walkeriana*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 780-787, 2009.

DRESSLER, R. L. **Phylogeny and classification of the orchid family**. Dioscorides Press, Portland, 1993. 314p.

ARIA, R. T.; RODRIGUES, F. N.; OLIVEIRA, L. V. R.; MÜLLER, C. *In vitro* *Dendrobium nobile* plant growth and rooting in different sucrose concentrations. **Horticultura Brasileira**, v. 22, p. 780-783, 2004.

FERNANDES, M. R.; BARBOZA, M. P.; SOUZA-LEAL, T.; PEDROSO-DE-MORAES, C. Morfobiometria carpo seminal e germinação de *Lafoensia pacari* A. St. Hil. (Lythraceae) exposta a diferentes concentrações de GA₃. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, suplemento 1, p. 2571-2584, 2012.

GALE, S. W. et al. Constraints on establishment in an endangered terrestrial orchid: a comparative study of *in vitro* and in situ seed germinability and seedling development in *Nervilia nipponica*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 163, p. 166-180, 2010.

GASPI, F. O. G.; FOGLIO, M. A.; CARVALHO, J. E.; SANTOS, G. M. T.; TESTA, M.; PASSARINI JÚNIOR, J. R.; PEDROSO-DE-MORAES, C.; ESQUISATTO, M. A. M.; MENDONÇA, J. S.; MENDONÇA, F. A. S. Effects of the Topical Application of Hydroalcoholic Leaf Extract of *Oncidium flexuosum* Sims. (Orchidaceae) and Microcurrent on the Healing of Wounds Surgically Induced in Wistar Rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 20, p. 1-9, 2011.

KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Porto Alegre: Guaíba, 2000. 164p.

KEEL, B. G.; ZETTLER, L. W.; KAPLIN, B. A. Seed Germination of *Habenaria repens* (Orchidaceae) *in situ* Beyond its Range, and its Potential for Assisted Migration Imposed by Climate Change. **Castanea**, v. 76, p. 43-54, 2011.

KOZAI, T. Photoautotrophic micropropagation. **In Vitro Cellular Developmental Biology**, v. 27, p. 47-51, 1991.

LIU, H.; PEMBERTON, R. Pollination of an invasive orchid, *Cyrtopodium polyphyllum* (Orchidaceae), by an invasive oil-collecting bee, *Centris nitida*, in southern Florida. **Botany**, v. 88, p. 290-295, 2010.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for a rapid growth and bioassays with tobacco tissues cultures. **Plant Physiology**, v. 15, p. 473-479, 1962.

PEDROSO-DE-MORAES, C. **Cultivo de Orquídeas**. Araras: Pró-Reitoria de Comunidade e Extensão do Centro Universitário Hermínio Ometto - UNIARARAS, 2000. v. 45. 130p.

PEDROSO-DE-MORAES, C.; MOURA, E. R. R.; SILVA, M. C.; ABDALLA, M. A. As orquídeas e o mercado. **Boletim CAOB**, v. 66, p. 36-42, 2007.

PEDROSO-DE-MORAES, C.; SOUZA-LEAL, T.; CORRÊA, R. P.; PAIOLI, R. R. L.; MARTELINE, M. A. Evaluation of protocorm formation in meristematic regions of roots and leaves of *Miltonia spectabilis moreliana* (Orchidaceae). **Journal of Advances in Biotechnology**, v. 5, p. 508-513, 2015.

PICCOLI, M. C. A.; SOUZA-LEAL, T.; PEDROSO-DE-MORAES, C. Distribuição espacial de *Sacoila lanceolata* (Aubl.) Garay (Orchidaceae) em fragmento mesófilo de Pirassununga, São Paulo, Brasil. **Nucleus**, v. 11, p. 115-129, 2014.

PINHEIRO, F.; BARROS, F.; LOURENÇO, A. R. O que é uma orquídea? In: BARROS, F.; KERBAUY, G. B. (Org.). **Orquidologia sul-americana: uma compilação científica**. São Paulo, p. 192. 2004.

PRIDGEON, A. M.; CRIBB, P. J.; CHASE, M. A.; RASMUSSEN, F. N. (Ed.). **Genera Orchidacearum**, v. 5: Epidendroideae (part two). Oxford: Oxford University Press, 2009. 585p.

REGO-OLIVIERA, L. D.; FARIA, R. T.; FONSECA, I. C.; SACONATO, C. Influência da concentração de carboidrato no crescimento vegetativo e enraizamento *in vitro* de *Oncidium varicosum* Lindl. (Orchidaceae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, p. 265-272, 2003.

ROY, A. R. et al. Asymbiotic seed germination, mass propagation and seedling development of *Vanda coerulea* Griffex. Lindl. (Blue Vanda): An *in vitro* protocol for an endangered orchid. **Scientia Horticulturae**, v. 128, p. 325-331, 2011.

SARRUGE, J. R. Soluções nutritivas. **Summa Phytopathologica**, v. 1, p. 231-233, 1975.

SENGHAS, K. A subtribus Oncidiinae. **Orquidário**, v. 12, p. 110-112, 1998.

SENGHAS, K. O gênero *Oncidium* no Brasil. **Orquidário**, v. 14, p. 7-12, 2000.

SILVA, J. A. T. da; CHAN, M. T.; CHAI, M. T.; TANAKA, M. Priming abiotic factors for optimal hybrid *Cymbidium* (Orchidaceae) PLB and callus induction, plantlet formation, and their subsequent cytogenetic stability analysis. **Scientia Horticulturae**, v. 109, p. 368-378, 2006.

SMEEKENS, G. S. M. Sugar-induced signal transduction in plants. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 51, p. 49-81, 2000.

SOARES, J. D. R. et al. Estiolamento e luz artificial no cultivo in vitro de orquídeas nativa e híbrida. **Ciência Rural**, v. 40, p. 1941-1947, 2010.

SOUTO, J. S. et al. Efeitos do ácido naftalenoacético no desenvolvimento in vitro de *Cattleya bicolor* Lindl. (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, p. 179-185, 2010.

STEFANELLO, S.; KARSTEN, J.; MÜLLER, T. S.; TOMCZAK, A. P.; BONETT, L. P.; SCHUELTTER, A. R. *In vitro* conversion of *Miltonia flavescens* Lindl. roots and leaf tip cells in protocorm like bodies and plant regeneration. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 53-59, 2009.

Recebido em: 21 de março de 2014

Aceito em: 17 de setembro de 2015