






## Influência da luz, ventilação natural e tamanho do frasco no crescimento e desenvolvimento de denphal (Orchidaceae)

Luan Marlon Ribeiro<sup>1</sup>, José Carlos Sorgato<sup>1</sup>, Silvana de Paula Quintão Scalon<sup>1</sup>,  
Jackeline Schultz Soares<sup>1</sup>, Isabella Souza Ribeiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias, Dourados, MS, Brasil. E-mail: luanmarlon@hotmail.com; josesorgato@ufgd.edu.br; silvanascalon@ufgd.edu.br; jacke.schultz@gmail.com; isabella.sribeeiro@gmail.com

**RESUMO:** Objetivou-se avaliar o crescimento da orquídea denphal, em função da luz, sistema de micropropagação e tamanho dos frascos de cultivo. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado e os tratamentos arranjados em esquema fatorial 2 x 2 x 2 com cinco repetições. Plântulas cultivadas *in vitro* por 90 dias, a partir do início do período experimental, foram retiradas dos frascos, lavadas e avaliadas quanto ao número de folhas, altura da plântula, diâmetro do maior pseudobulbo, número de brotos e raízes, comprimento da maior raiz e da maior folha, e massa fresca. A seguir foram plantadas em substrato (esfagno rosa + fibra de coco) e transferidas para ambiente *ex vitro*. Com o intuito de investigar seus incrementos, após 90 dias, as plantas foram avaliadas quanto às mesmas características iniciais. Os diferentes espectros de luz não foram determinantes para o crescimento da planta. A utilização do sistema de ventilação natural em frascos de maior tamanho foi o fator que proporcionou condições favoráveis na promoção do crescimento, tanto no cultivo *in vitro* quanto no *ex vitro* do denphal.

**Palavras-chave:** aclimatização; cultivo *in vitro*; floricultura

## Influence of light, natural ventilation and cultivation flask size on the growth and development of denphal (Orchidaceae)

**ABSTRACT:** This study aimed to evaluate the growth of denphal orchid, in function of the light, micropropagation system and size cultivation flasks. The experimental design was completely randomized and treatments arranged in factorial scheme 2 x 2 x 2 with five replicates. Seedlings cultivated *in vitro* for 90 days, from the beginning of the experimental period, were removed to the flasks, washed and evaluated for the number of leaves, seedling height, diameter of the largest pseudobulb, number of the shoots and roots, length of the largest root and largest leaf, and fresh mass. Then they were planted in substrate (pink sphagnum + coconut fiber) and transferred to *ex vitro* environment. In order to investigate their increases, after 90 days the plants were evaluated for the same initial characteristics. The different light spectra weren't decisive for the growth of denphal. The use of natural ventilation system in larger flasks was the factors that provided favorable conditions in promoting growth both *in vitro* and *ex vitro* cultivation.

**Key words:** acclimatization; *in vitro* culture; floriculture

## Introdução

As tecnologias de ponta, incorporadas às atividades de produção de flores e plantas ornamentais, garantem o bom desempenho deste setor no Brasil (Junqueira & Peetz, 2017a). Nos últimos anos, esse segmento apresentou crescimento anual entre 6 a 9%, movimentando em 2017, 6,9 bilhões de reais na cadeia produtiva (Junqueira & Peetz, 2018). Esse fato demonstra o importante potencial de expansão desse mercado consumidor no país.

As orquídeas estão se destacando nesse setor, devido a sua capacidade de combinação genética, beleza, diversidade de cor, forma e durabilidade de suas flores (Zahara et al., 2017). Assim, os produtores têm respondido atentamente ao crescimento contínuo deste seguimento no mercado interno, e a cada ano vêm introduzindo novos híbridos de orquídeas, resultantes de melhoramentos, sendo registrados atualmente 2.345 cultivares dessas plantas (Junqueira & Peetz, 2017b).

Dentre os gêneros mais comercializados, está o *Dendrobium* que possui grande quantidade de espécies e híbridos, adaptáveis a todos os tipos de clima, além de serem utilizados como flor de corte (Araújo, 2017; Junqueira & Peetz, 2017b). O *Dendrobium bigibbum* Lindl., comumente chamado de denphal, é amplamente cultivado e comercializado, apresentando florescimento ereto e vistoso, podendo ocorrer várias vezes ao ano (Lim, 2014; Araújo, 2017; Junqueira & Peetz, 2018).

Para a multiplicação de várias espécies vegetais, incluindo as orquídeas, são utilizadas técnicas de cultivo *in vitro*, consideradas como ferramenta biotecnológica importante na obtenção de plantas, tanto para a pesquisa e preservação das espécies, quanto para a produção em escala comercial (Cardoso, 2014). Dentre essas técnicas, destaca-se a germinação assimbiótica, que pode resultar em elevados percentuais de germinação, sendo considerada uma alternativa viável e relevante para produção desse gênero de orquídea (Teixeira da Silva et al., 2015).

Um dos fatores que pode influenciar na germinação, no crescimento e no desenvolvimento *in vitro* do material vegetal é o microambiente dentro dos frascos de cultivo, que pode variar dependendo do tipo e tamanho do frasco utilizado e do sistema de micropropagação (Calvete et al., 2002). A luz também atua em diversos processos metabólicos dos vegetais. Dessa maneira são utilizados diferentes comprimentos de onda, fotoperíodos e irradiâncias em diversos estudos, como forma de otimizar o processo de propagação de plantas cultivadas *in vitro* (Tsutsumi et al., 2011; Teixeira da Silva et al., 2015).

Poucos são os estudos relatando os efeitos morfofisiológicos que variações no microambiente dentro dos frascos de cultivo *in vitro* e os diferentes espectros de luz têm sobre as orquídeas. Diante do exposto, objetivou-se neste trabalho avaliar o crescimento de plantas de *D. bigibbum* em função da luz, do sistema de micropropagação (convencional e ventilação natural) e do tamanho dos frascos de cultivo.

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido no laboratório de cultivo *in vitro* e no viveiro telado de orquídeas da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados. Foi utilizado como material de estudo, sementes de frutos maduros, oriundos da polinização manual da orquídea denphal proveniente de matrizes com mais de dez anos, cultivadas em viveiro coberto pela sobreposição de duas telas de sombreamento de 50%, propiciando irradiância de 235  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , sob condições médias de temperatura e umidade relativa de  $22,6 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $73,9 \pm 10\%$ , respectivamente.

Foi pesada uma amostra de 0,005 g de sementes e realizado o teste de tetrazólio. Após a confirmação da viabilidade, outra amostra de 0,005 g de sementes foi levada para ambiente asséptico e desinfestada com 15 mL de solução de hipoclorito de sódio a 0,8%, permanecendo imersa durante cinco minutos. Após este período, a suspensão de sementes foi diluída para 50 mL e em seguida recebeu tríplice lavagem com água destilada estéril. Na sequência, o volume da suspensão foi completado para 50 mL com água destilada esterilizada em autoclave ( $121 \text{ }^\circ\text{C}$  e 1,1 atm de pressão por 20 minutos) para a semeadura *in vitro*, inoculando-se 1000  $\mu\text{L}$  da suspensão de sementes por frasco de cultivo. Foram utilizados 60 mL de meio de cultura Murashige & Skoog (1962), na metade da concentração de sais ( $\text{MS } \frac{1}{2}$ ), utilizando-se frasco com capacidade de 600 mL. Posteriormente, os frascos com as sementes inoculadas foram dispostos na sala de crescimento com temperatura e fotoperíodo controlados ( $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 16 h/8 h) e irradiância de 22  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , propiciada por duas lâmpadas fluorescentes brancas.

Após 180 dias de cultivo, as plantas foram padronizadas quanto ao tamanho ( $25,0 \pm 0,5 \text{ mm}$ ) e subcultivadas para o início do período experimental. Foi utilizado como meio de cultura o meio MS (Murashige & Skoog, 1962) solidificado com 7,0 g  $\text{L}^{-1}$  de ágar bacteriológico (Himedia®, Índia) e suplementado com 30 g  $\text{L}^{-1}$  de sacarose. O pH do meio foi aferido e ajustado para 5,8, utilizando-se KOH (0,1M) antes da esterilização em autoclave ( $121 \text{ }^\circ\text{C}$  e 1,1 atm de pressão), por 20 minutos.

Foram utilizados dois tamanhos de frascos de cultivo: um com capacidade para 600 mL, contendo 60 mL de meio MS e outro com capacidade para 50 mL, contendo 20 mL do referido meio. No frasco maior (600 mL) foram inoculadas, em ambiente asséptico, sete plantas, perfazendo uma área de 6,30  $\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$ ; no frasco menor (50 mL) foram inoculadas três plantas, totalizando uma área de 3,20  $\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$ . Na sequência, metade dos frascos de cada tamanho foi vedada hermeticamente com tampa rosqueável (sistema convencional) e a outra metade com tampa rosqueável com furo e filtro de algodão (sistema de ventilação natural), permitindo troca gasosa.

A seguir, os frascos de cultivo foram divididos em dois conjuntos, um contendo 20 frascos (cinco menores em sistema convencional, cinco menores em sistema de ventilação natural, cinco maiores em sistema convencional e

cinco maiores em sistema de ventilação natural) e dispostas em ambiente com temperatura e fotoperíodo controlados ( $25 \pm 2$  °C; 16 h/8 h), sendo que cada conjunto foi exposto a uma condição de luz: 1 - duas lâmpadas fluorescentes brancas ( $22 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e 2 - duas lâmpadas fluorescentes vermelhas (Gro-lux®) ( $9,45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

Decorridos 90 dias do subcultivo, as plantas foram retiradas dos frascos e lavadas em água corrente até total remoção do meio de cultivo, sendo avaliadas quanto ao número de folhas (NF), altura da planta (AP), diâmetro do maior pseudobulbo (DP) (mm), número de brotos (NB), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CR) (mm), comprimento da maior folha (CF) (mm) e massa fresca (MF) (g).

Para a avaliação do crescimento *ex vitro* das plantas, todas as plantas cultivadas *in vitro* foram transferidas para recipientes descartáveis de polipropileno transparente com capacidade para 1000 mL (20 x 10 x 5 cm), providos de furos na tampa, para trocas gasosas, e na base para drenagem do substrato, sendo  $\frac{1}{3}$  de seu volume preenchido com esfagno rosa (Agrolink, Holambra-SP) + fibra de coco (Golden-Mix Chips, Amafibra) (1:1, v:v).

Após o transplântio, foram mantidas em viveiro telado, permanecendo por 90 dias nas mesmas condições citadas para plantas matrizes. A irrigação durante o período experimental foi realizada por micro aspersores tipo bailarina, posicionados a um metro acima das plantas, totalizando uma lâmina de água de 1 mm dia<sup>-1</sup>.

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

Após esse período, as plantas foram retiradas dos recipientes e lavadas em água corrente até total remoção do substrato. Em seguida, foram avaliadas quanto às mesmas características iniciais (NF, AP, DP, NB, NR, CR, CF, MF).

Com intuito de investigar a hipótese de aumento no crescimento das plantas durante a fase *ex vitro*, de acordo com os tratamentos a que foram inicialmente expostas, foram calculados seus incrementos (I) em relação aos valores iniciais

por meio da expressão  $I = (VF - VI)$ , onde VI é o valor da variável antes da planta ser aclimatizada e VF é o valor da mesma variável após o período *ex vitro*, sendo seus valores expressos em porcentagem e submetidos à análise de variância.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado e os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial 2 x 2 x 2 (dois espectros de luz, dois sistemas de micropropagação e dois tamanhos de frascos) com cinco repetições constituídas por frascos, totalizando 200 plantas. Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo que as médias foram comparadas pelo teste F ( $p = 0,05$ ), com auxílio do programa SISVAR (Ferreira, 2011).

## Resultados e Discussão

### Crescimento *in vitro*

Não houve efeito significativo entre os espectros de luz, sistema de micropropagação e tamanhos dos frascos ( $p \geq 0,05$ ) sobre as características avaliadas do denphal, aos 90 dias de cultivo *in vitro*. No entanto, houve efeito conjunto entre os sistemas de micropropagação e os tamanhos dos frascos para altura de planta (AP), comprimento da maior folha (CF) e número de folhas (NF). A análise de variância também apresentou interação entre os espectros de luz e os tamanhos dos frascos para AP e massa fresca (MF).

As plantas de denphal apresentaram maior AP (34,09 mm no frasco maior e 30,08 mm no frasco menor) e maior CF (29,67 mm no frasco menor e 28,58 mm no frasco maior), ambos sem diferença estatística. E para os frascos em sistema convencional foram observadas as menores médias para essas variáveis (Tabela 1). Os resultados observados estão relacionados à utilização do sistema de ventilação natural que permite trocas gasosas entre o interior do frasco e o ar atmosférico, influenciando o crescimento das plantas *in vitro* (Silva et al., 2016). Esses resultados corroboram com os de Silva et al. (2014) onde plantas de *Cattleya walkeriana* Gardner, cultivadas em frascos vedados com tampas que proporcionaram ventilação, apresentaram características de crescimento superiores àquelas cultivadas em ambiente hermético. De acordo com Mohamed & Alsadon (2010), a micropropagação de plantas em condições de ventilação natural, pode ser uma alternativa para superar problemas morfofisiológicos decorrentes do sistema convencional de cultivo *in vitro*.

O maior NF ocorreu quando as plantas foram cultivadas em sistema convencional e em frascos maiores apresentando

**Tabela 1.** Altura de planta (AP), comprimento da maior folha (CF) e número de folhas (NF) de *Dendrobium bigibbum* Lindl. em função do sistema de micropropagação (SVN = sistema de ventilação natural; SC = sistema convencional) e tamanho dos frascos, após 90 dias de cultivo *in vitro*.

Sistema de micropropagação	AP (mm)		CF (mm)		NF	
	Maior	Menor	Maior	Menor	Maior	Menor
SVN	34,09 aA	30,08 aA	28,58 aA	29,67 aA	9,45 bA	8,72 aA
SC	18,29 bA	26,10 aA	18,50 bA	25,32 aA	22,68 aA	13,16 aB
Média	27,14		28,02		13,50	
C.V.(%)	12,70		17,05		15,74	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha dentro das variáveis, não diferem estatisticamente entre si pelo teste F ( $p \geq 0,05$ ).

média de 22,68 folhas. Nessas mesmas condições, porém em frascos menores foram observadas 13,16 folhas (Tabela 1). Isso está relacionado com o perfilamento dessas plantas, influenciado pelo maior número de brotações. O sistema de micropropagação empregado interfere nas trocas gasosas, uma vez que a vedação hermética dos frascos ocasiona um aumento no CO<sub>2</sub> e gás etileno, podendo ocasionar mudanças fisiológicas nas plantas, diferenciação e crescimento dos tecidos, indução e diferenciação de órgãos (Silva et al., 2014; Teixeira da Silva et al., 2017).

Quando as plantas foram cultivadas sob luz branca e em frascos menores foi observada maior AP (33,68 mm) (Tabela 2). Isso pode estar relacionado com a qualidade da luz branca, que disponibiliza o comprimento de onda azul e vermelho. Galdiano Júnior et al. (2012) estudando espectro de luminosidade no cultivo *in vitro* de *Cattleya loddigesii* Lindl., observaram que essa qualidade de luz propiciou a maior produção de clorofila *a*, clorofila total, carotenoides e relação clorofila *a/b*.

Já, quando as plantas foram submetidas à luz vermelha e cultivadas em frascos maiores, apresentaram a maior MF (2,48 g). De acordo com Taiz et al. (2017) a qualidade da luz proporcionada ao material propagado é importante para regular as vias bioquímicas que controlam o crescimento e a morfogênese. Esse comprimento de onda, de modo geral, promove o crescimento foliar, acúmulo de carboidratos e alterações anatômicas (Hung et al., 2016), contribuindo para o aumento da massa fresca dessas plantas. A influência da qualidade da luz sobre o crescimento e o desenvolvimento de plantas está fortemente associada à espécie vegetal cultivada (Hung et al., 2016; Taiz et al., 2017).

Os efeitos isolados foram observados para os sistemas de micropropagação no maior diâmetro de pseudobulbo (DP) e no número de brotos (NB), e para os espectros de luz no número de raízes (NR) e no comprimento da maior raiz (CR).

Os frascos com sistema de ventilação natural proporcionaram melhores condições para o DP apresentando média de 4,83 mm (Tabela 3). Assim, esse sistema de micropropagação pode estar envolvido na melhora de trocas gasosas, permitindo a eliminação do etileno para o meio externo e contribuindo para o aumento em diâmetro dos pseudobulbos.

No entanto, quando as plantas foram cultivadas em frascos com sistema convencional, apresentaram maior NB

**Tabela 2.** Altura de planta (AP) e massa fresca (MF) de *Dendrobium bigibbum* Lindl., em função do espectro de luz e tamanho dos frascos, após 90 dias de cultivo *in vitro*.

Espectro de luz	AP (mm)		MF (g)	
	Maior	Menor	Maior	Menor
Luz branca	24,51 aB	33,68 aA	1,04 bA	1,23 aA
Luz vermelha	27,87 aA	22,51 bA	2,48 aA	1,33 aB
Média	27,14		1,52	
C.V.(%)	12,70		8,15	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha dentro das variáveis, não diferem estatisticamente entre si pelo teste F ( $p \geq 0,05$ ).

**Tabela 3.** Diâmetro do maior pseudobulbo (DP) e número de brotos (NB) de *Dendrobium bigibbum* Lindl. em função do sistema de micropropagação (SVN = sistema de ventilação natural; SC = sistema convencional), após 90 dias de cultivo *in vitro*.

Sistema de micropropagação	DP (mm)	NB
SVN	4,83 a	2,48 b
SC	4,07 b	5,16 a
Média	4,45	3,82
C.V. (%)	5,67	19,25

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F ( $p \geq 0,05$ ).

(5,16 brotos), resultado que pode estar relacionado com o maior NF, também encontrado nesse tratamento (Tabela 1). Este fato pode ser decorrente da presença de gás etileno e de elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> no ambiente hermético de cultivo, que podem diminuir o crescimento das plantas e conteúdo de pigmentos fotossintéticos (Silva et al., 2014; Silva et al., 2016; Teixeira da Silva et al., 2017). E neste trabalho contribuindo para formação de brotos e folhas.

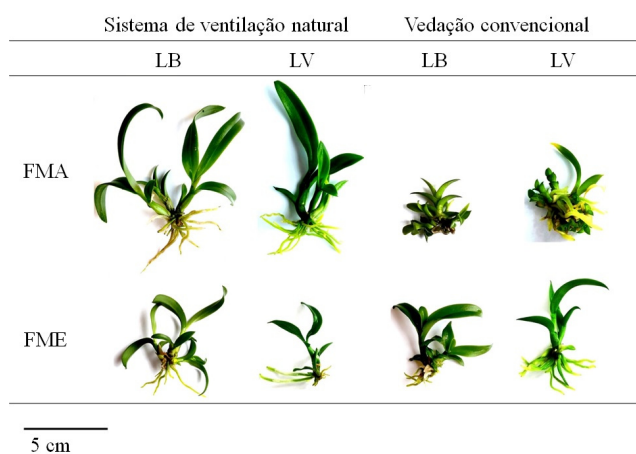
As plantas quando foram cultivadas sob luz vermelha, apresentaram os maiores valores para as variáveis NR e CR, sendo 19,10 raízes e 31,27 mm respectivamente (Tabela 4). Segundo George (1996), a luz vermelha estimula o enraizamento em muitas espécies, porém resultados diversos são encontrados na literatura. Assim como neste trabalho, Daud et al. (2013) relatam que em *Jatropha curcas* L. a luz vermelha induziu o enraizamento de 65 % dos brotos, conferindo assim uma resposta favorável deste tipo de luz na indução do enraizamento *in vitro*. Em contrapartida, no cultivo *in vitro* de *Cattleya loddigesii* Lindl. Galdiano Júnior et al. (2012) observaram que a utilização da luz vermelha proporcionou redução no crescimento da maior raiz quando comparado com o uso da luz branca.

Ao verificar a Figura 1, pode-se constatar que, para plântulas de denphal, a utilização de frascos maiores e do sistema de ventilação natural, foram fatores que proporcionaram condições favoráveis na promoção do crescimento *in vitro*. Uma explicação para este fato, de acordo com Silva et al. (2016), é que sistemas de micropropagação que permitem trocas gasosas entre o microambiente dentro do frasco e o ar atmosférico, acabam por diminuir o acúmulo de gás etileno e CO<sub>2</sub>, favorecendo o crescimento das partes das plantas no cultivo *in vitro*.

**Tabela 4.** Número de raízes (NR) e comprimento da maior raiz (CR) de *Dendrobium bigibbum* Lindl. em função do espectro de luz, após 90 dias de cultivo *in vitro*.

Espectro de luz	NR	CR (mm)
Luz branca	8,37 b	19,28 b
Luz vermelha	19,10 a	31,27 a
Média	13,74	25,27
C.V. (%)	15,94	10,07

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F ( $p \geq 0,05$ ).



**Figura 1.** Plantas de *Dendrobium bigibbum* Lindl. com 90 dias de cultivo *in vitro* em função do espectro de luz (LB = luz branca e LV = luz vermelha), sistema de micropropagação e tamanho dos frascos (FMA = frasco maior; FME = frasco menor).

A observação da Figura 1 permite inferir que mesmo a condição de luz sendo um dos fatores que interferem na eficiência do cultivo *in vitro* (Teixeira da Silva et al., 2015), neste experimento, o espectro de luz não foi determinante para o crescimento do denphal. E, que a utilização de frascos menores pode ter ocasionado superpopulação de indivíduos no frasco de cultivo, o que, como relatado por Soares et al. (2017), pode acarretar no esgotamento das reservas nutritivas dos meios de cultura, promovendo o lento desenvolvimento ou até mesmo na morte das estruturas vegetais formadas.

### Crescimento *ex vitro*

Para os 180 dias após o início do período experimental, não houve efeito significativo entre os espectros de luz, sistemas de micropropagação e tamanhos dos frascos ( $p \geq 0,05$ ) sobre as características avaliadas. A interação significativa foi observada entre os sistemas de micropropagação e os tamanhos dos frascos para o DP, NR, CR e MF, entre os espectros de luz e tamanhos dos frascos para NF, AP, NB, NR e CR, e entre os espectros de luz e os sistemas de micropropagação para o NF, DP e CR.

Ao final do período *ex vitro*, verificou-se maior porcentagem de incremento para DP (37,90%), NR (43,63%) e CR (73,77%) em plantas de denphal oriundas de frascos menores e com sistema convencional, e para MF (69,55%) naquelas provenientes de frascos maiores com sistema de ventilação natural (Tabela 5).

Este fato pode estar relacionado com a transferência para o ambiente *ex vitro*, uma vez que estas plantas necessitam completar seu autotrofismo elevando suas taxas metabólicas para realização da fotossíntese e respiração, pois a capacidade de fotossintetizar, gerenciar a água e responder à atividade durante e após o cultivo *in vitro* determinam o desempenho final do material vegetal propagado (Teixeira da Silva et al., 2017).

Dessa forma, as plantas cultivadas *in vitro* em sistema convencional elevaram sua taxa de crescimento na fase *ex*

**Tabela 5.** Incrementos (%) em diâmetro do maior pseudobulbo (DP), comprimento da maior raiz (CR), número de raízes (NR) e massa fresca (MF) de *Dendrobium bigibbum* Lindl. em função do sistema de micropropagação (SVN = sistema de ventilação natural; SC = sistema convencional) e tamanho dos frascos, após 90 dias de cultivo *ex vitro*.

Sistema de micropropagação	DP		CR	
	Maior	Menor	Maior	Menor
SVN	27,41 aA	21,98 bA	71,39 aA	63,20 aA
SC	30,00 aA	37,90 aA	47,35 bB	73,77 aA
Média	29,32		63,93	
C.V. (%)	13,02		6,84	
	NR		MF	
	Maior	Menor	Maior	Menor
SVN	23,28 aA	19,50 bA	69,55 aA	65,43 aA
SC	28,39 aB	43,63 aA	36,83 bB	62,82 aA
Média	28,70		58,66	
C.V. (%)	12,75		11,16	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha dentro das variáveis, não diferem estatisticamente entre si pelo teste F ( $p \geq 0,05$ ).

*in vitro*, enquanto plantas provenientes do sistema de ventilação natural, as quais já haviam iniciado sua rustificação durante o cultivo *in vitro*, apenas mantiveram essa taxa.

Com relação à interação entre plantas cultivadas sob luz vermelha e frascos menores foram observados os maiores incrementos em AP (35,18%), NF (12,82%) e NR (35,18%) (Tabela 6). Isso pode ter ocorrido em função dos frascos menores limitarem o crescimento *in vitro* dessas plantas, fazendo com que essas aumentassem seu crescimento durante o cultivo *ex vitro*. Além disso, Ricklefs (2010) explica que a condição de luz é um fator determinante na aclimatização da maioria das orquídeas epífitas. De acordo com Taiz et al. (2017), a quantidade e qualidade de luz fornecida ao material propagado são importantes para regular as vias bioquímicas que controlam o crescimento e a morfogênese vegetal, uma vez que essas características podem afetar diretamente na aclimatização das plantas.

Já para a luz branca, em associação com frascos menores proporcionaram maiores incrementos de NB (27,51%) e com frascos maiores de CR (72,28%) (Tabela 6). Esses resultados corroboram com os de Galdiano Júnior et al. (2012), que relatam, que a utilização de luz branca propiciou maior desenvolvimento tanto *in vitro*, quanto *ex vitro* de *Cattleya loddigesii* Lindl. A luz fluorescente branca resulta da combinação de diferentes cores, incluindo azul e vermelho, contendo todos os comprimentos de onda necessários para ganhos energéticos pela fotossíntese, bem como para outros processos fisiológicos (Antonopoulou et al., 2004).

Para a interação entre os espectros de luz e os sistemas de micropropagação, as plantas cultivadas em sistema de ventilação natural e submetidas à luz branca apresentaram maior porcentagem de incremento em NF (17,36%), porém, quando cultivadas em sistema convencional, mostraram superioridade em relação aos incrementos de DP (40,64%) e CR (76,87%) (Tabela 7). Resultados semelhantes foram observados por Favetta et al. (2017), onde plantas de *Cattleya*

**Tabela 6.** Incrementos (%) de altura de planta (AP), número de folhas (NF), número de brotos (NB), número de raízes (NR) e comprimento da maior raiz (CR) de *Dendrobium bigibbum* Lindl. em função do espectro de luz e tamanho dos frascos, após 90 dias de cultivo *ex vitro*.

Espectro de luz	AP		NF		NB	
	Maior	Menor	Maior	Menor	Maior	Menor
Luz branca	30,87 aA	27,95 aA	12,73 aA	4,65 bB	15,65 aB	27,51 aA
Luz vermelha	20,80 bA	35,18 aA	6,49 bB	12,82 aA	15,01 aA	0,00 bB
Média	57,64		9,17		14,54	
C.V. (%)	9,99		16,85		8,02	
	NR		CR			
	Maior	Menor	Maior	Menor		
Luz branca	30,87 aA	27,95 aA	72,78 aA	72,01 aA		
Luz vermelha	20,80 bB	35,18 aA	46,47 bB	64,95 aA		
Média	28,70		63,93			
C.V. (%)	12,75		6,84			

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha dentro das variáveis, não diferem estatisticamente entre si pelo teste F ( $p \geq 0,05$ ).

**Tabela 7.** Incrementos (%) de número de folhas (NF), diâmetro do maior pseudobulbo (DP) e comprimento da maior raiz (CR) de *Dendrobium bigibbum* Lindl. em função do espectro de luz e sistema de micropropagação (SVN = sistema de ventilação natural; SC = sistema convencional), após 90 dias de cultivo *ex vitro*.

Sistema de micropropagação	NF		DP		CR	
	Luz branca	Luz vermelha	Luz branca	Luz vermelha	Luz branca	Luz vermelha
SVN	17,36 aA	11,99 aA	23,14 bA	26,25 aA	67,42 aA	67,17 aA
SC	0,02 bB	7,32 aA	40,64 aA	27,26 aB	76,87 aA	44,25 bB
Média	9,17		29,32		63,93	
C.V. (%)	16,85		13,02		6,84	

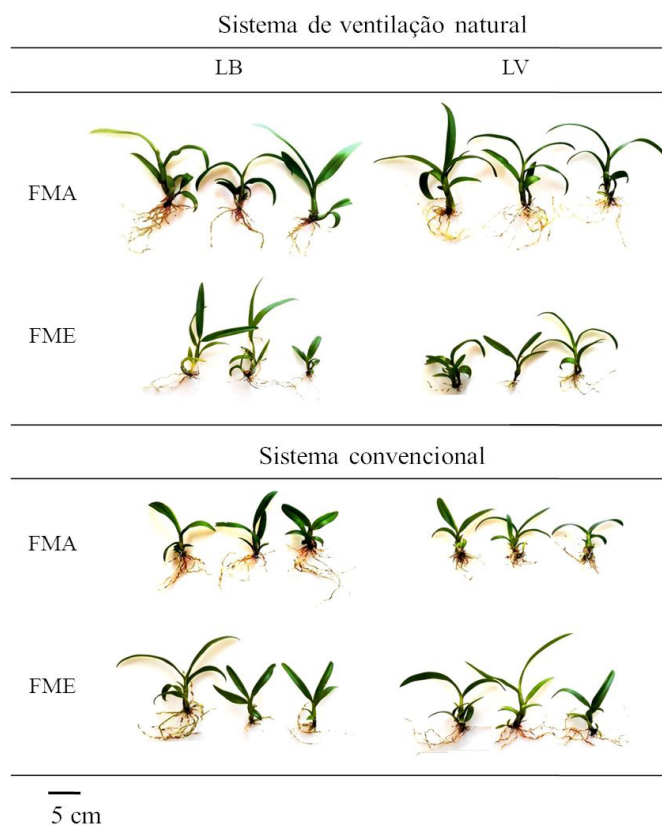
Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha dentro das variáveis, não diferem estatisticamente entre si pelo teste F ( $p \geq 0,05$ ).

*lundii* (Rchb. f. & Warm.) Van den Berg, quando submetidas ao comprimento de onda vermelho, apresentaram menor número de brotações e sistema radicular menos desenvolvidos.

Dentre todos os fatores estudados, os que apresentaram maior influência no desenvolvimento das plantas durante o cultivo *ex vitro* foram os sistemas de micropropagação e tamanhos dos frascos. Ao observar a Figura 2, pode-se verificar que quando as plantas foram cultivadas em frascos maiores favoreceram o crescimento durante o cultivo *ex vitro* das plantas, possivelmente pela maior disponibilidade de nutrientes para as plântulas quando em cultivo *in vitro*, uma vez que há a redução na competição por luz, nutrientes e espaço (Jorge et al., 2015).

Em relação ao sistema de micropropagação, Silva et al. (2016) relataram que os benefícios da ventilação são devidos à redução da umidade *in vitro* e aumento na aeração, produzindo plantas mais rústicas e preparadas para condições *ex vitro*.

A condição de luminosidade não foi limitante no crescimento das plantas durante o período *ex vitro*, permitindo inferir que nenhum dos espectros de luz da sala de crescimento foi considerada estressora no cultivo *ex vitro* de denphal, pois não houve mortalidade e ocorreram acréscimos positivos em todas as características analisadas (Figura 2). De acordo com Rosa et al. (2014), quanto maior o crescimento de determinados órgãos das plantas em número ou diâmetro, maior será a resistência e a sobrevivência dessas em condições de estresse hídrico e nutricional, bem como durante o período de aclimatização *ex vitro*.



**Figura 2.** Plantas de *Dendrobium bigibbum* Lindl. com 90 dias de cultivo *ex vitro* em função do espectro de luz (LB = luz branca e LV = luz vermelha), sistema de micropropagação e tamanho dos frascos (FMA = frasco maior; FME = frasco menor).

## Conclusão

A utilização do sistema de ventilação natural em frascos maiores, independentemente da condição de luminosidade, promoveu o crescimento de plantas, tanto no cultivo *in vitro*, quanto no *ex vitro*, sendo estas condições ambientais indicadas para o cultivo de denphal.

## Literatura Citada

- Antonopoulou, C.; Dimassi, K.; Therios, I.; Chatzissavvidis, C. The influence of radiation quality on their *in vitro* rooting and nutrient of peach rootstock. *Biologia Plantarum*, v.48, n.4, p.549-553, 2004. <https://doi.org/10.1023/B:BIOP.0000047151.26284.5f>.
- Araújo, R. Orquídeas *Dendrobium*. São Paulo: Editora Europa, 2017. 79p.
- Calvete, E.O.; Kampf, A.N.; Suzin, M. Concentração de sacarose no enraizamento *in vitro* de morangueiro. *Horticultura Brasileira*, v.20, n.2, p.186-191, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362002000200014>.
- Cardoso, J.C. Publicação em cultivo *in vitro* de plantas: qualidade para o avanço científico e tecnológico. *Horticultura Brasileira*, v.32, n.4, p.383-384, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0102-053620140000400002>.
- Daud, N.; Faizal, A.; Geelen, D. Adventitious rooting of *Jatropha curcas* L. is stimulated by phloroglucinol and by red LED light. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, v.49, n.2, p.183-190, 2013. <https://doi.org/10.1007/s11627-012-9486-4>.
- Favetta, V.; Colombo, R.C.; Mangili Júnior, J.F.; Faria, R.T. Light sources and culture media in the *in vitro* growth of the Brazilian orchid *Microlaelia lundii*. *Semina: Ciências Agrárias*, v.38, n.4, p.1775-1784, 2017. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n4p1775>.
- Ferreira, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>.
- Galdiano Júnior, R.F.; Mantovani, C.; Pivetta, K.F.L.; Lemos, E.G.M. Crescimento *in vitro* e aclimatização de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae) com carvão ativado sob dois espectros luminosos. *Ciência Rural*, v.42, n.5, p.801-807, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012005000019>.
- George, E.F. Plant propagation by tissue culture, part 1 - the technology. Edington: Exegetics Limited, 1996. 1574p.
- Hung, C.D.; Hong, C.H.; Kim, S.K.; Lee, K.H.; Park, J.Y.; Nam, M.W.; Choi, D.H.; Lee, H.I. LED light for *in vitro* and *ex vitro* efficient growth of economically important highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, v.38, n.6, article 152, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2164-0>.
- Jorge, J.; Juras, M.C.R.; Suzuki, R.M. Germinação e crescimento inicial *in vitro* de *Cattleya warneri* T. Moore (Orchidaceae). *Revista Brasileira de Biociências*, v.13, n.3, p.134-141, 2015. <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/3083>. 08 Jul. 2018.
- Junqueira, A.H.; Peetz, M.S. Brazilian consumption of flowers and ornamental plants: habits, practices and trends. *Ornamental Horticulture*, v.23, n.2, p.178-184, 2017a. <https://doi.org/10.14295/oh.v23i2.1070>.
- Junqueira, A.H.; Peetz, M.S. Intellectual property rights in Brazilian floriculture: innovations for the growth and development of the market. *Ornamental Horticulture*, v.23, n.3, p.296-306, 2017b. <https://doi.org/10.14295/oh.v23i3.1071>.
- Junqueira, A.H.; Peetz, M.S. Sustainability in Brazilian floriculture: introductory notes to a systemic approach. *Ornamental Horticulture*, v.24, n.2, p.155-162, 2018. <https://doi.org/10.14295/oh.v24i2.1253>.
- Lim, T.K. *Dendrobium bigibbum*. In: Lim, T.K. (Ed.). Edible medicinal and non medicinal plants. Volume 8, Flowers. Dordrecht: Springer, 2014. p.555-558. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-8748-2\\_43](https://doi.org/10.1007/978-94-017-8748-2_43).
- Mohamed, M.A.H.; Alsadon, A.A. Influence of ventilation and sucrose on growth and leaf anatomy of micropropagated potato plantlets. *Scientia Horticulturae*, v.123, n.3, p.295-300, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.09.014>.
- Murashige, T.; Skoog, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiology Plantarum*, v.15, n.3, p.473-497, 1962. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.
- Ricklefs, R.E. A economia da natureza. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 570 p.
- Rosa, Y.B.C.J.; Ramos, F.Z.; De Souza, R.G.; Soares, J.S.; Rosa Junior, E.J.; Hoffmann, N.T.K.; Rosa, D.B.C.J.; Sorgato, J.C. Influência da luminosidade no crescimento e floração de *Dendrobium nobile* Lindl. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, v.20, n.1, p.79-86, 2014. <https://doi.org/10.14295/rbho.v20i1.480>.
- Silva, A.B.; Lima, P.P.; Oliveira, L.E.S.; Moreira, A.L. *In vitro* growth and leaf anatomy of *Cattleya Walkeriana* (Gardner, 1839) grown in natural ventilation system. *Revista Ceres*, v. 61, n. 6, p. 883-890, 2014. <https://doi.org/10.1590/0034-737X201461060001>.
- Silva, A.B.; Reis, C.O.; Cazetta, J.O.; Carlin, S.D.; Landgraf, P.R.C.; Reis, M.C. Effects of exogenous proline and a natural ventilation system on the *in vitro* growth of orchids. *Bioscience Journal*, v.32, n.3, p.619-626, 2016. <https://doi.org/10.14393/BJ-v32n3a2016-31368>.
- Soares, J.S.; Ribeiro, L.M.; Sorgato, J.C. Germinação e crescimento *in vitro* de *Dendrobium nobile* Lindl. sem subcultivo em meio de cultura alternativo. *Brazilian Journal of Biosystems Engineering*, v.11, n.4, p.365-372, 2017. <https://doi.org/10.18011/bioeng2017v11n4p365-372>.
- Taiz, L.; Zeiger, E.; Moller, I.M.; Murphy, A. Fisiologia vegetal. Porto Alegre: Artmed, 2017. 918p.
- Teixeira da Silva, J.A.; Hossain, M.M.; Sharma, M.; Dobránszki, J.; Cardoso, J.C.; Songjun, Z. Acclimatization of *in vitro*-derived *Dendrobium*. *Horticultural Plant Journal*, v.3, n.3, p.110-124, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2017.07.009>.
- Teixeira da Silva, J.A.; Tsavkelova, E.A.; Ng, T.B.; Parthibhan, S.; Dobránszki, J.; Cardoso, J.C.; Rao, M.V.; Zeng, S. Asymbiotic *in vitro* seed propagation of *Dendrobium*. *Plant Cell Reports*, v.34, n.10, p.1685-1706, 2015. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1829-2>.
- Tsutsumi, C.; Miyoshi, K.; Yukawa, T.; Kato, M. Responses of seed germination and protocorm formation to light intensity and temperature in epiphytic and terrestrial *Liparis* (Orchidaceae). *Botany*, v.89, n.12, p.841-848, 2011. <https://doi.org/10.1139/b11-066>.
- Zahara, M.; Datta, A.; Boonkorkaew, P.; Mishra, A. The effects of different media, sucrose concentrations and natural additives on plantlet growth of *Phalaenopsis* Hybrid 'pink'. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.60, n.1, p.1-15, 2017. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2017160149>.