



GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE SEMENTES DE *Catasetum schmidtianum* MIRANDA & LACERDA EM DIFERENTES GELEIFICANTES ALTERNATIVOS

Rosangela Roque Leles Gaudêncio¹; Daniel Pereira Miranda²; Isane Vera Karsburg³

1. Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso, *Campus* de Alta Floresta – MT, Brasil.
2. Graduando em Agronomia da Universidade do Estado de Mato Grosso, *Campus* de Alta Floresta - MT, Brasil.
(danielmiranda08@hotmail.com)
3. Professor (a) Adjunto (a) da Universidade do Estado de Mato Grosso, *Campus* de Alta Floresta - MT, Brasil.

Recebido em: 12/04/2014 – Aprovado em: 27/05/2014 – Publicado em: 01/07/2014

RESUMO

A família Orchidaceae constitui uma das maiores dentre as fanerógamas, sendo que o gênero *Catasetum* possui grande representação no Brasil, caracterizando-se por possuir flores trímeras de morfologia atrativa à entomofilia. O cultivo *in vitro* de orquídeas é uma técnica que possibilita a germinação do maior número de sementes e condições assépticas fatores como luz e temperatura controlados. O objetivo deste trabalho foi analisar e identificar o meio geleificante alternativo mais eficiente para a propagação *in vitro* de sementes de *Catasetum schmidtianum*, estabelecendo um protocolo adequado para germinação. No trabalho foram utilizadas sementes provenientes de um único fruto do gênero *Catasetum schmidtianum*, para multiplicação no meio de cultura “C” de Knudson (1946), geleificados com diferentes agentes: meio 1- amido de milho, meio 2- polvilho, meio 3- gelatina natural, meio 4- fécula de batata e meio 5- ágar. O experimento consistiu de 05 tratamentos com 10 repetições cada, onde foram avaliados 20 protocormos quanto ao tamanho, totalizando 80 protocormos por meio de cultura. O meio 3 (gelatina natural) diferiu significativamente dos demais meios, isso pode estar relacionado à transparência que o meio apresentou e pela consistência mais líquida. Os meios 1, 2 e 4 apresentaram valores intermediários, menores que o meio 3 e maiores do que o meio 5, não diferindo significativamente entre si. No meio de cultivo com tratamento 5, não houve germinação da orquídea *C. schmidtianum*, fato que pode estar relacionado a consistência do meio. O meio em que foi utilizada a gelatina como agente geleificante se obteve melhor desenvolvimento dos protocormos.

PALAVRAS- CHAVE: orchidaceae, protocormos, sementeira

***In vitro* SEEDS GERMINATION *Catasetum schmidtianum* MIRANDA & LACERDA) IN DIFFERENT ALTERNATIVE Gellant**

ABSTRACT

The orchid family is one of the largest among the seagrass, and the *Catasetum* have great representation in Brazil, characterized by having flowers trimerous attractive to entomophily morphology. *In vitro* cultivation of orchids is a technique that enables the germination of more seeds and conditions esseptic factors such as light and temperature. The objective of this study was to analyze and identify the most efficient alternative gelling medium for the *in vitro* propagation of seeds *Catasetum schmidtianum* by establishing an appropriate protocol for germination. At work seeds from a single fruit of *Catasetum schmidtianum* for multiplication were used in the culture medium " C " Knudson (1946), jellified with different agents: 1 medium - corn starch, 2 medium - Sprinkles, medium 3 - natural gelatin, medium 4 - potato starch and medium 5 - agar. The experiment consisted of 05 treatments with 10 replications, where 20 protocorms were evaluated for size, totaling 80 protocorms by culture. The medium 3 (gelatin) differed significantly from all media, this may be related to the transparency that the media presented and the more liquid consistency. Means 1, 2 and 4 were not significantly different as intermediaries between themselves. The medium 5, the control treatment did not germinate, which may be related to consistency of the medium. The environment in which the gelatin was used as gelling agent obtained better development of protocorms.

KEYWORDS: Orchidaceae, sowing, protocorm

INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae é reconhecida por ser uma família que possui um dos maiores números de espécies, cerca de 25.000 distribuídos em 800 gêneros (KOCH e SILVA, 2012). No Brasil são encontradas 2449 espécies aceitas distribuídas entre 239 gêneros (BARROS et al., 2014).

O gênero *Catasetum* em sua grande maioria é constituído de plantas epífitas, ocasionalmente terrestres, é compreendida por centenas de espécies, são encontradas na América- tropical. Suas flores são grandes e vistosas, algumas com bela aparência, outras são grotescas. Algumas são decíduas e outras conservam as folhas até que os botões surjam (KRAMER, 1989). PETINI-BENELLI (2012) menciona que todas as flores de *Catasetum* tanto masculinas, femininas e hermafroditas, apresentam óleos atrativos para seus polinizadores.

A espécie *Catasetum schmidtianum* apresenta pseudobulbos eretos e fusiformes; haste arqueada multiflora; flores patentes; sépalas laterais semipatentes, côncavas. Labelo carnoso e fortemente verrucoso na superfície superior, de forma geral côncava voltada para cima, e seus dentes ou cílios, que ocorrem apenas nos bordos laterais do labelo, seguem esta disposição, os bordos carnosos não se curvam, mantendo-se planos, seu eixo forma um ângulo de 90° com a coluna. A coloração é muito variável (MIRANDA & PETINI-BENELLI, 2012).

A semeadura *in vitro* é considerada uma alternativa importante na propagação de orquídeas, cujo método segue um protocolo para a produção de orquídeas em um pequeno período de tempo e em larga escala, uma alternativa para resgatar espécies ameaçadas de extinção (PEDROSO DE MORAES et al., 2009). CORDEIRO et al., (2011) enfatizam que o cultivo *in vitro* de orquídeas podem ser um meio para que as coletas predatórias minimizem, podendo restaurar as populações naturais destas plantas.

Para o meio de cultura se apresentar consistente é necessária a utilização de um agente geleificante, o mais utilizado é o ágar. O ágar é um produto extraído de algas (Rhodophyta) pertencente aos gêneros *Acanthopeltis*, *Gelidiella*, *Gelidium*, *Gracilaria* e *Pterocladia*. É considerado um elemento que onera os custos de produção, além de limitar o desenvolvimento de algumas espécies de plantas (SCHÄFFER et al., 2004). Para reverter o elevado custo, é necessária a substituição deste agente geleificante ou a retirada do mesmo do meio de cultura.

O trabalho objetivou analisar e identificar o meio geleificante alternativo mais eficiente para a propagação *in vitro* de sementes de *Catasetum schmidtianum* estabelecendo um protocolo adequado para germinação.

MATERIAL E METODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais da UNEMAT – Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus de Alta Floresta/MT.

Sementes de *Catasetum schmidtianum* provenientes de fecundação controlada oriundas de cápsulas coletadas na Chácara Recanto das Orquídeas, no município de Alta Floresta - Mato Grosso, foram utilizadas neste trabalho.

Os tratamentos consistiram de diferentes meios de geleificação alternativos e um meio testemunha (M5) (Tabela 1), adicionados aos componentes da fórmula “C” de KNUDSON (1946).

TABELA 1 – Composição dos meios de cultura.

Tratamentos	10mL L ⁻¹ solução da fórmula Knudson (1946)	30g L ⁻¹ sacarose	Agente geleificante
M1	X	X	Amido de milho – 30g L ⁻¹
M2	X	X	Polvilho azedo - 15g L ⁻¹
M3	X	X	Gelatina natural - 24g L ⁻¹
M4	X	X	Fécula de batata -10g L ⁻¹
M5	X	X	Ágar - 3g L ⁻¹

Os meios tiveram o pH ajustado para 5,5. A quantidade dos agentes geleificantes alternativos foi definida com base em avaliações prévias. Para cada tratamento foram utilizados frascos com capacidade de 300 mL contendo 50 mL e constituído de 10 repetições. Os meios nos frascos foram submetidos ao processo de esterilização em autoclave por 20 minutos, à temperatura de 120°C, 1 g/fcm².

Na câmara de fluxo laminar, as sementes foram retiradas das respectivas cápsulas e submetidas a esterilização em solução de hipoclorito de sódio na concentração de 1% e Twen 20 a 0,05% retirando-se o excesso posteriormente com água destilada autoclavada.

Após a esterilização dos frascos com os meios, em câmara de fluxo laminar, foi realizada a semeadura com auxílio de uma seringa estéril para medida de 1 mL de solução de sementes dissolvidas em água. Os frascos foram vedados com PVC e acondicionados em prateleiras com temperatura que variou de 23°C a 28°C e iluminação ambiente.

Decorridos quatro meses da inoculação das sementes em meio nutritivo para germinação, foi avaliado o desenvolvimento dos protocormos com auxílio de um paquímetro digital. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente

casualizado, com cinco tratamentos distintos, representado por dez repetições. Destes, foram utilizados para análise 04 frascos de cada meio de cultura, dos quais foram avaliados 20 protocormos quanto ao desenvolvimento e coloração, totalizando 80 protocormos por meio de cultura. Em seguida, o material vegetal de todos os tratamentos foi transferido para novos meios de cultura para a continuidade do desenvolvimento das plântulas.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância por meio do programa SISVAR (FERREIRA, 2011), e as médias dos agrupamentos pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 30 dias de inoculação das sementes sem o uso de fitoreguladores, ocorreu o início da germinação do meio com 24g L⁻¹ de gelatina natural. Os meios com 30g L⁻¹ de amido de milho, 15g L⁻¹ de polvilho azedo e 10g L⁻¹ de fécula de batata germinaram após 40 dias e o meio 5 não germinou.

Segundo SANTOS et al., (2007), em avaliação de porcentagem de germinação, formação de protocormos e de plântulas “*in vitro*” de *Cattleya bicolor* utilizando os reguladores vegetais ácido á-naftaleno acético (ANA) e ácido giberélico (GA3) em diferentes concentrações (1,0 2,0 e 5,0 mg L⁻¹) no meio básico “C” Knudson, observou que as sementes germinaram em aproximadamente 20 dias após inoculação sobre qualquer um dos tratamentos. FERREIRA (2011) utilizando o meio de cultura alternativo B&G sem fitoreguladores, notou que a germinação da orquídea *Cattleya aurantiaca* ocorreu após 10 dias da sementeira *in vitro*.

Após o período de 70 dias a partir da inoculação das sementes os protocormos se apresentavam bem visíveis com aproximadamente 0,05 mm de tamanho. NASCIMENTO et al., (2010), verificaram a formação de protocormos em *Brassocattleya Pastoral alba* ‘Innocence’ após 60 dias da sementeira em meio alternativo B&G.

Entre os tratamentos utilizados ocorreram diferenças estatísticas (Tabela 2). O tratamento com gelatina natural (Meio 3) proporcionou maior desenvolvimento de protocormos, o meio de cultura contendo amido de milho (Meio 1), polvilho azedo (Meio 2) e fécula de batata (Meio 4) não apresentaram diferença estatística e o tratamento 5 que continha ágar não apresentou desenvolvimento. O Meio 01, apresentou consistência gelatinosa e aspecto leitoso. Os protocormos deste meio apresentaram um desenvolvimento uniforme e coloração amarela âmbar (Figura 1 - A).

O tamanho médio destes protocormos obtidos aos 120 dias da data da sementeira foi de 1,75 mm (Tabela 2). COSTA (2013) avaliando diferentes agentes geleificantes na germinação de *Cattleya tigrina*, constatou que para as variáveis massa (g) e comprimento total (mm) de plântulas, o ágar também apresentou valores inferiores aos demais tratamentos (fécula de mandioca, amido de milho, polvilho e gelatina), o melhor agente geleificante para a espécie foi a fécula de mandioca. Resultados divergem de GALDIANO JÚNIOR (2012), constatando que para a espécie *Cattleya loddigesii* em meio de cultura MS, conferiu que a fécula de mandioca foi ineficiente para o crescimento de folhas e raízes e o número das mesmas.

Os protocormos apresentaram tamanho homogêneo sem muita discrepância, evidenciando um CV baixo, como pode ser observado na figura 1.

TABELA 2 – Média do tamanho (mm) dos protocormos de *Catasetum schmidtianum*.

Tratamentos	Média
Meio 1	1,75 b
Meio 2	2,00 b
Meio 3	3,00 a
Meio 4	2,00 b
Meio 5	0,00 c
Valor de F	25,04 **
DMS (5%)	0,52
CV (%)	11,43

Médias seguidas por letras iguais pertencem ao mesmo agrupamento segundo critério de Scott e Knott a 5% de probabilidade.

** significativo pelo teste F a 5%. DMS: Diferença mínima significativa. C.V.: Coeficiente de variação.

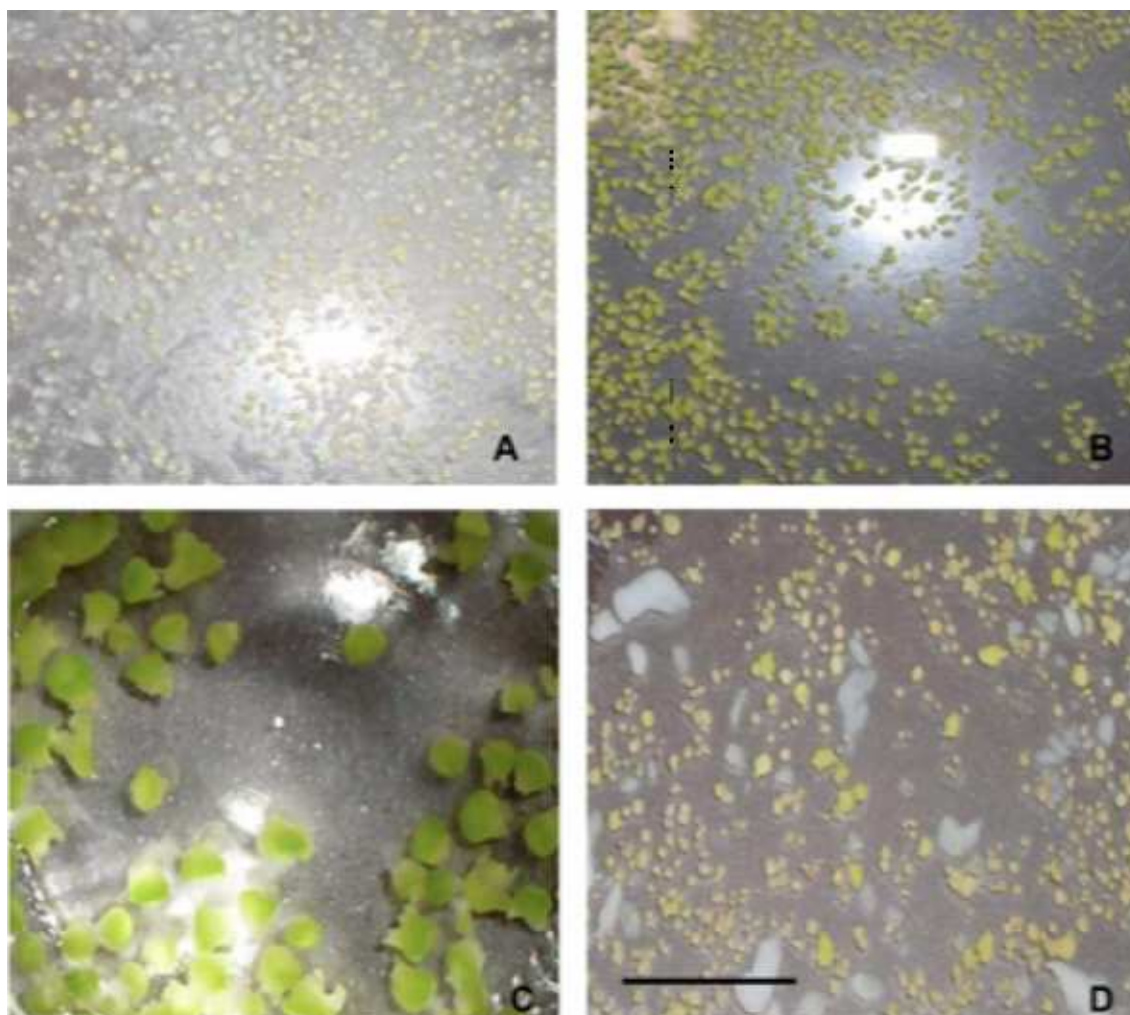


FIGURA 1 - Morfologia e desenvolvimento de protocormos de *Catasetum schmidtianum* após 120 dias de desenvolvimento. Meios de cultura: A - 30g L⁻¹ de amido de milho, B - 15g L⁻¹ de polvilho azedo, C - 24g L⁻¹ de gelatina natural, D - 10g L⁻¹ de fécula de batata. Barra = 2 mm.

O meio 02, suplementado com 15g L⁻¹ polvilho azedo, resultou numa mistura de consistência gelatinosa e aspecto leitoso, pouco transparente. Os protocormos germinaram uniformemente, apresentando uma coloração verde oliva (Figura 1 – B), tendo em média 2,00 mm de tamanho. COSTA et al., (2007), em avaliação a diferentes agentes geleificantes alternativos para cultivo de abacaxizeiro e bananeira, verificaram que as gemas axilares de abacaxi desenvolveram-se satisfatoriamente em meio suplementado total ou parcialmente com polvilho, em substituição ao ágar.

FERRI et al., (1998), testaram a substituição parcial do ágar pelo polvilho no enraizamento do porta-enxerto de macieira MM 111 e concluíram que o uso de agente solidificante composto por ágar mais amido apresentou maior número de raízes por microestacas, maior comprimento das raízes, maior intensidade de calo e antecipou o surgimento das raízes.

Já o meio 03, preparado com 24g L⁻¹ de gelatina natural, sem sabor e incolor, deu origem a um meio aquoso de coloração amarela clara. O desenvolvimento foi uniforme, resultando na formação de protocormos de coloração verde brilhante (Figura 1 – C), com tamanho médio 3,00 mm.

SANTOS et al. (2007), relatam que os protocormos de orquídeas epífitas apresentam normalmente coloração verde (pigmentos de clorofila) o que lhes permite produzir seu próprio alimento. Pela comparação das médias em geral, o meio supracitado forneceu condições para uma melhor formação estrutural dos protocormos em relação aos demais meios utilizados, isto pode estar associado à transparência e consistência mais líquida do meio. Conforme especificado por ULISSES et al., (2010), o meio de cultura líquido distribui os nutrientes de forma homogênea, além de diminuir os custos de produção ao não acrescentar ágar.

O desenvolvimento mais satisfatório dos protocormos foi com meio suplementado com gelatina natural, fator que pode estar relacionado à quantidade de proteínas na porção. Conforme SOUSA (2013), as gelatinas comestíveis possuem em sua formulação 84 à 90% de proteína, 8 à 12% de água e 2 à 4 % de sais minerais. O maior desenvolvimento dos protocormos também pode estar relacionado à grande quantidade de aminoácidos contidos na gelatina, como ácido aspártico, ácido glutâmico e um que fornece enxofre às plantas chamado de cisteína (LEE et al., 2012).

A fécula de batata, agente geleificante do meio 04, proporcionou a formulação de um meio de consistência gelatinosa, aspecto transparente, levemente turvo. Nesta cultura observou-se protocormos em estágios de desenvolvimento variados, apresentando coloração verde claro (Figura 1 – D). Conforme a avaliação do desenvolvimento os protocormos referentes tiveram em média 2,00 mm de tamanho (Tabela 2).

Diferentemente dos meios já mencionados, o meio 05, considerado tratamento controle, tendo o ágar (3g L⁻¹) como agente de solidificação, apresentou uma consistência sólida e transparente. Porém, nesse meio não ocorreu a germinação das sementes, fato que pode estar relacionado à consistência do meio. De acordo com FIALHO et al., (2011), o ágar não diferiu dos meios de cultura contendo os agentes geleificantes vermiculita e fibra de *Pteridium aquilinum* Kuhn nas variáveis: número de folha e altura de plântulas, porém diferiu no peso de matéria seca, onde as plantas no meio com ágar alcançaram a maior média para a orquídea *Laelia tenebrosa* Rolfe.

Todos os meios formulados com os agentes alternativos apresentaram uma consistência semi-sólida em comparação ao meio controle preparado com o agente geleificante ágar, isso talvez esteja associado com o desenvolvimento dos protocormos, pois quando os meios são mais consistentes ocorrem dificuldades na absorção dos sais e prejudica o desenvolvimento celular. Segundo CALDAS et al., (1998), meios sólidos apresentam estabelecimento de gradientes de nutrientes, o que não ocorre em meios líquidos, que são homogêneos, propiciando maior desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea. MOREIRA et al., (2013) em estudo de germinação e crescimento realizado com *Cattleya walquiriana*, verificaram que em diferentes sistemas de micropropagação com uso de biorreator e método convencional, o biorreator de imersão temporária sem uso de ágar apresentou os resultados mais satisfatórios para esta espécie. Os meios testados apresentaram turbidez diferentes. Segundo FERREIRA & HANDRO (1988) citados por SOUZA & JUNGHANS (2006), alguns fatores físicos como o estado físico do meio, a luz, o pH e a temperatura, podem exercer efeito sobre as culturas e interferir nos processos morfogênicos, sendo que a luz é o fator que mais influencia nesses processos.

No meio 3 (24g L⁻¹ de gelatina natural), a transparência do meio pode ter influenciado no melhor desenvolvimento dos protocormos, por haver maior incidência de luz. Contudo, nos meios 1 (30g L⁻¹ de amido de milho), 2 (15g L⁻¹ de polvilho azedo) e 4 (10g L⁻¹ de fécula de batata) a turbidez do meio pode ter dificultado o desenvolvimento dos protocormos. Não só em orquídeas, mas a quantidade de luz *in vitro* influencia outras espécies como descrito por SOUZA et al., (2012), este verificaram que na ausência de luz a germinação *in vitro* de genótipos de oliveira foi reduzida em comparação à germinação na presença de luz.

Os meios 1, 2 e 4 (30g L⁻¹ de amido de milho, 15g L⁻¹ de polvilho azedo e 10g L⁻¹ de fécula de batata respectivamente) ficaram como intermediários, não diferindo significativamente entre si, razão que pode estar relacionado à semelhança que estes apresentaram, tanto na consistência quanto na turbidez, provavelmente tenham oferecido condições semelhantes para o estabelecimento das sementes. Estudos morfológicos sobre protocormos se fazem necessários para melhor compreensão dessa estrutura para que venham corroborar com os trabalhos já existentes.

CONCLUSÕES

Os meios contendo amido de milho, polvilho azedo, gelatina natural e fécula de batata, apresentaram resultados satisfatórios na propagação *in vitro* de sementes de *Catsetum schmidtianum*. O meio em que foi utilizado a gelatina como agente geleificante apresentou melhor desenvolvimento dos protocormos, podendo este ser estabelecido como protocolo alternativo de geleificação.

REFERÊNCIAS

BARROS, F. DE; VINHOS, F.; RODRIGUES, V.T.; BARBERENA, F.F.V.A.; FRAGA, C.N.; PESSOA, E.M.; FORSTER, W.; MENINI NETO, L. *Orchidaceae* in: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB179>>. Acesso em: 05 Abr. 2014.

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 CNPH, v. 1, p. 87-132. 1998.

CORDEIRO, G. M.; MORAES, C. P. de; MASSARO, R.; CUNHA, T. da. Desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya amethystoglossa* Lindley X (*Cattleya dupreana* X *Laelia purpurata* Lindley) em Diferentes Meios de Cultura. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, Garça, v. 18, n. 1, p. 22-28, 2011.

COSTA, C. D. N. G. **Germinação e desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya tigrina* A. Rich em meios alternativos de geleificação.** 2013, 27f. Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas)- Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta.

COSTA, F. H. da S.; PEREIRA, M. A. A.; OLIVEIRA, J. P.; PEREIRA, J. S. Efeito de agentes geleificantes alternativos no meio de cultura no cultivo *in vitro* de abacaxizeiro e bananeira. **Ciência Agrotecnológica**, Lavras, v. 31, n.1, p. 41-46, jan./fev., 2007.

FERREIRA, D. A. T. **Germinação e desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya - aurantiaca* Bateman ex Lindley em meio de cultura alternativo com diferentes concentrações de extrato do licor pirolenhoso.** 2011.18f. Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas)- Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta.

FERREIRA, D. S. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia (UFLA)**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FERRI, V. C.; CENTELHAS, A. Q.; HELBIG, V. E.; FORTES, G. R. DE L. Uso de ágar, amido e ácido indolbutírico no enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de macieira MM 111. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 4, p. 561-565, 1998.

FIALHO, G. S.; DOVALE, J. C.; SOBREIRA, F. M.; SCHMILDT, E. R. Comportamento de plântulas de *Laelia tenebrosa* Rolfe (Orchidaceae), inoculadas *in vitro* sob diferentes substratos. **Idesia**, Chile, v. 29, n. 1, p.103-105, 2011.

GALDIANO JÚNIOR, R. F.; MANTOVANI, C.; LEMOS, E. G. de. M. Seleção de agentes alternativos ao ágar para propagação de plântulas de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.7, suplemento, p.756-760, 2012.

KOCH, A. K; SILVA, C. A. **Orquídeas**: nativas de Mato Grosso. 1º ed. Cuiabá: Carlini & Caniato Editorial, 2012, 112p.

KRAMER, J. **Orquídeas**. Salamandra, 1989, 276 p.

KNUDSON, L. A. New nutrient solution for the germination of orchid seed. **American Orchid Society Bulletin**, West Palm Beach, v.14, p.214- 217, 1946.

LEE, S. J.; KIM, K. H.; KIM, Y. S.; KIM, E. K.; HWANG, J. W.; LIM, B. O.; MOON, S. H.; JEON, B. T.; JEON, Y. J.; AHN, C. B.; PARK, P. J. biological activity from the gelatin hydrolysates of duck skin by-products. **Process Biochemistry**, v. 47, n.7, p. 1150-1154, 2012.

MOREIRA, A. L.; SILVA, A. B.; SANTOS, A.; REIS, C. O.; LANDGRAF, P.R.C. *Cattleya walkeriana* growth in different micropropagation systems. **Ciência Rural**, v.43, n.10, p.1804-1810, 2013

NASCIMENTO, H. R; COSTA, L.G; FERNANDES, L; KARSBURG, I.V. Germinação *in vitro* de sementes de *Brassocattleya Pastoral alba* 'Innocence' em meio de cultura alternativo. In: III Semana da Biologia, 2010. Alta Floresta. **Anais...** Alta Floresta: 2010. 139p.

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

PETINI-BENELLI, A. **Orquídeas de Mato Grosso: genus *Catasetum* L.C. Rich ex Kunth**. 1º ed. Rio de Janeiro: PoD, 2012, 130p.

SANTOS, G. A.; SAITO, B. C.; MONTEIRO, D. de P.; GUTIERRE, M. A. M.; ZONETTI, P. DA C. **Utilização de reguladores hormonais na germinação e formação de plântulas *in vitro* de orquídeas**. Iniciação Científica CESUMAR, v. 09, n. 1, p. 07-12, 2007.

SCHÄFFER, P. C. de. S.; FIOR, C. S.; LEONHARDT, C.; KAMPF, A. N. 2004, Estudos com goma carragena na geleificação de meios para micropropagação. In: XVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTIFICA, XIII FEIRA DE INICIAÇÃO CIENTIFICA, 2004, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 2004. 912p.

SOUZA, A. S.; JUNGHANS, T. G. **Introdução à Micropropagação de plantas**. Bahia: EMBRAPA Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. 151 p.

SOUSA, L. O. **Obtenção e caracterização de membrana de gelatina e membrana de gelatina com prata para uso em regeneração tecidual guiada**. 2013. 79f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia)- Universidade de São Paulo, São Carlos.

SOUZA, R. A. V.; BRAGA, F. T.; AZEVEDO, P. H. de; FERREIRA, J. L.; CANÇADO, G. M. de. A. Efeito da luz na germinação *in vitro* de embriões zigóticos de genótipos de oliveira. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 3, p. 299-304, 2012.

ULISSES, C.; WILLADINO, L.; ALBUQUERQUE, C. C. de; CÂMARA, T. R. Clonagem vegetal. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônoma**, Recife, v. 7, p. 86-91, 2010.