



ARTIGO

Morfofisiologia de plântulas de *Cattleya labiata* Lindley e *Cattleya eldorado* Linden cultivadas *in vitro* sob influência de paclobutrazol

Marcos Vinícius Latanze Righeto¹, Livia Vieira de Almeida², Gilvano Ebling Brondani^{2*}, Antonio Francisco de Campos Amaral³ e Marcílio de Almeida^{1,2}

Recebido: 11 de agosto de 2011 Recebido após revisão: 08 de outubro de 2011 Aceito: 31 de outubro de 2011
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1986>

RESUMO: (Morfofisiologia de plântulas de *Cattleya labiata* Lindley e *Cattleya eldorado* Linden cultivadas *in vitro* sob influência de paclobutrazol). A eficiência do cultivo *in vitro* de orquídeas está associada aos meios de cultura utilizados e, principalmente, aos fitoreguladores. O trabalho teve como objetivo avaliar a influência de paclobutrazol (PBZ) no desenvolvimento de plântulas de *Cattleya labiata* Lindley e *Cattleya eldorado* Linden, cultivadas *in vitro*. Plântulas provenientes de germinação *in vitro*, com $1 \pm 0,2$ cm de comprimento, foram utilizadas no estudo. No experimento, utilizou-se como controle o meio de cultura MS isento de reguladores de crescimento vegetal. Nos tratamentos, o meio MS foi suplementado com PBZ nas concentrações 1, 2, 4 e 6 mg.L⁻¹. Além disso, utilizou-se um tratamento com a combinação de 4 mg.L⁻¹ de PBZ com 1 mg.L⁻¹ de ácido naftalenoacético (ANA) e 1 mg.L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo trifatorial com parcelas subdivididas no tempo, com seis repetições por tratamento. As avaliações morfológicas foram realizadas no início do experimento e nos subcultivos a cada 40 dias, durante 160 dias. O tratamento com 1 mg.L⁻¹ de PBZ, por 40 dias, promoveu maior desenvolvimento e vigor do sistema radicular podendo contribuir para a fase de aclimatização das plântulas.

Palavras-chave: orquídea, cultivo *in vitro*, regulador de crescimento vegetal, micropropagação, morfologia.

ABSTRACT: (*In vitro* morphophysiology of plantlets of *Cattleya labiata* Lindley and *Cattleya eldorado* Linden under the influence of paclobutrazol). The efficiency of *in vitro* cultivation of orchids is associated with culture media, and especially with the plant growth regulators. This study aimed to evaluate the influence of paclobutrazol (PBZ) in the development of *in vitro* plantlets of *Cattleya labiata* Lindley and *Cattleya eldorado* Linden. Plantlets from *in vitro* germination, with 1 ± 0.2 cm in length, were used in this study. In the experiment, hormone-free MS medium was used as the control. Treatments consisted of MS medium supplemented with 1, 2, 4 and 6 mg.L⁻¹ of PBZ. PBZ at a concentration of 4 mg.L⁻¹ combined with 1 mg.L⁻¹ naphthalene acetic acid (NAA) and 1 mg.L⁻¹ 6-benzylaminopurine (BAP) was also tested. The experiment was completely randomized in a factorial arrangement in time, with six replicates per treatment. The morphological evaluations were performed at the onset of the experiment and at the subcultures every 40 days, during 160 days. Treatment with 1mg.L⁻¹ PBZ for 40 days promoted further development and vigor of the root system and may contribute to the acclimatization phase of plantlets.

Key words: orchid, *in vitro* culture, plant growth regulator, micropropagation, acclimatization, morphology.

INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica e a região Amazônica são consideradas os principais habitats brasileiros das orquídeas, onde estão presentes espécies endêmicas de relevante valor ornamental e comercial, como *Cattleya warneri*, *C. labiata* e *Laelia purpurata* (Farias & Ribeiro 2000), *C. araguaiensis*, *C. eldorado*, *C. luteola* e *C. violacea* (Barros *et al.* 2010). *Cattleya labiata* Lindley e *Cattleya eldorado* Linden estão sob forte risco de desaparecimento na natureza em um futuro próximo, sendo reconhecidas, respectivamente, como espécie em extinção e espécie vulnerável à extinção (Barros *et al.* 2010).

Considerando os processos de extinção das espécies vegetais, é necessário o desenvolvimento de métodos eficientes de propagação. Nesse contexto, a micro-

propagação é uma técnica que possibilita a produção de grande número de plantas em ambiente reduzido e controlado, e em curto espaço de tempo. Além disso, garante a manutenção e preservação do material genético em bancos de germoplasma por longos períodos, contribuindo com a perpetuação da espécie.

Um método para propagação de orquídeas é a germinação assimbiótica de suas sementes e o cultivo *in vitro*, estendendo-se até a aclimatização. No cultivo *in vitro*, os meios de cultura utilizados oferecem as condições necessárias ao crescimento e desenvolvimento das plantas (Butcher & Ingran 1976; Dixon 1985) e o uso adequado de reguladores de crescimento nas diferentes fases do processo pode ser considerado como essencial para sua realização (Souza *et al.* 2003). Dentre os reguladores de crescimento que podem ser utilizados, estão

1. Laboratório de Morfogênese e Biologia Reprodutiva de Plantas, Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo (USP). Av. Pádua Dias, 11, CEP 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil.

2. Laboratório de Fisiologia das Árvores, Programa de Pós-Graduação em Recursos Florestais, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP. Av. Pádua Dias, 11, CEP 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil.

3. Centro de Biotecnologia (CEBTEC), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP. Av. Pádua Dias, 11, CEP 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil.

* Autor para contato. E-mail: gebrondani@yahoo.com.br

auxinas, citocininas e inibidores de crescimento, como o paclobutrazol.

O paclobutrazol (PBZ) atua na inibição da síntese de ácido giberélico, promovendo mudanças morfológicas no crescimento das plantas (Smith *et al.* 1990; Roberts *et al.* 1992), associando-se, ainda, com diminuição da transpiração, altura da planta, biomassa e área foliar, além do aumento na quantidade de clorofila (Chaney 2004). No cultivo *in vitro*, o PBZ aumenta a resistência ao estresse e promove o engrossamento das raízes, colaborando sobremaneira com o processo de aclimatização das mudas (Canto *et al.* 2004).

Diante do exposto, o trabalho objetivou avaliar a atuação do paclobutrazol no desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya labiata* e *Cattleya eldorado*, visando otimizar a aclimatização das plântulas, uma vez que a taxa de sobrevivência neste período representa um dos maiores entraves ao processo de micropropagação de orquídeas.

MATERIAL E MÉTODOS

As plântulas, de oito meses de idade, de *Cattleya labiata* e *Cattleya eldorado* foram obtidas a partir da germinação *in vitro* de sementes provenientes de cápsulas imaturas oriundas de autopolinização, em meio de cultura MS (Murashige & Skoog 1962), sem reguladores de crescimento.

Os tratamentos consistiram do meio MS acrescido de PBZ nas concentrações de 1, 2, 4 e 6 mg.L⁻¹, isoladamente. A combinação de 4 mg.L⁻¹ de PBZ com ácido naftalenoacético (ANA) e 6-benzilaminopurina (BAP), ambos na concentração de 1 mg.L⁻¹, também foi avaliada. Meio MS sem reguladores de crescimento foi utilizado como controle.

Foram selecionadas plântulas que apresentavam 1 ± 0,2 cm de comprimento, cujas raízes foram retiradas no momento da introdução nos respectivos tratamentos, visando avaliar unicamente as raízes desenvolvidas após a inoculação. O meio de cultura foi geleificado

com 10 g.L⁻¹ de ágar, sendo o pH ajustado para 5,7 e esterilizado em autoclave a 121 °C, por 20 minutos. Foram utilizados seis frascos de 180 mL, contendo 40 mL de meio de cultura, com três plantas por frasco. Cada frasco foi considerado como uma unidade experimental.

As culturas foram mantidas em sala de crescimento, durante 160 dias, com temperatura e luminosidade controladas (25±2 °C; irradiância de 42 µmol.m⁻².s⁻¹ de radiação fotossinteticamente ativa (PAR) e fotoperíodo de 16 horas).

O número de brotações por plântula, o comprimento da parte aérea, o comprimento da maior raiz e o comprimento da lâmina do segundo par de folhas foram determinados no início do experimento e nos subcultivos, a cada 40 dias.

O experimento foi conduzido com delineamento inteiramente casualizado em arranjo trifatorial (2x7x5), com parcelas subdivididas no tempo, sendo os fatores constituídos por espécies, combinações de reguladores de crescimento e períodos de avaliação (0, 40, 80, 120, 160 dias). Foram realizadas seis repetições por tratamento, sendo cada uma composta por uma unidade experimental.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), a 5% e 1% de probabilidade de erro. De acordo com a significância, foi realizada a análise de regressão polinomial a 5% e a 1% e as médias dos tratamentos foram comparadas por teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro, através do programa SOC (Embrapa 1990).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A importância dos fitorreguladores e do tempo de exposição das plantas aos mesmos pode ser comprovada pelas respostas das características de crescimento, que diferiram significativamente para todas as variáveis avaliadas. De acordo com a análise de variância (Tab. 1), a interação entre a combinação de fitorreguladores

Tabela 1. Análise de variância para o número de brotos (NBROT), comprimento da parte aérea (COMA), comprimento da maior raiz (COMR) e comprimento da lâmina foliar (COMF) de plântulas de *Cattleya labiata* e *Cattleya eldorado* em relação aos tratamentos testados.

Causas da Variação	GL	Quadrados Médios			
		NBROT ¹ (explante ⁻¹)	COMA ¹ (cm.explante ⁻¹)	COMR ¹ (cm.explante ⁻¹)	COMF ¹ (cm.explante ⁻¹)
Tempo (T)	4	9,319**	0,072**	0,589**	1,195**
Subparcela (T)	30	0,069 ^{ns}	0,002 ^{ns}	0,018 ^{ns}	0,013*
Espécie (E)	1	0,405 ^{ns}	0,058**	0,279**	0,419**
Combinação (C)	6	2,376**	0,200**	0,293**	0,402**
E * C	6	0,303*	0,005 ^{ns}	0,121**	0,015 ^{ns}
E * T	4	0,288*	0,001 ^{ns}	0,082**	0,069**
C * T	24	0,291**	0,024**	0,047**	0,100**
E * C * T	24	0,067 ^{ns}	0,002 ^{ns}	0,013 ^{ns}	0,010 ^{ns}
Resíduo	250	0,104	0,002	0,020	0,007
Média	-	1,07	0,86	0,27	0,87
CV _{exp} (%)	-	28,27	4,57	16,71	7,62

1, Dados transformados por $(x+0,5)^{0,5}$ pelo teste de Bartlett ao nível de 5% de probabilidade de erro. x = dado amostrado.

ns. Não significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo teste F.

* e **. Valor significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade de erro, respectivamente, pelo teste F.

GL, graus de liberdade; CV_{exp}, coeficiente de variação experimental.

e tempo de avaliação foi significativo para número de brotos ($P<0,01$), comprimento da parte aérea ($P<0,01$), comprimento da maior raiz ($P<0,01$) e comprimento da lâmina foliar ($P<0,01$). Observou-se também interação entre espécie e tempo de avaliação para o número de brotos ($P<0,05$), comprimento da maior raiz ($P<0,01$) e para o comprimento da lâmina foliar ($P<0,01$). Ao considerar a interação entre espécie e combinação de fitoreguladores houve efeito significativo para o número de brotos ($P<0,05$) e comprimento da maior raiz ($P<0,01$).

Os efeitos do PBZ sob as plântulas indicam que, independente das concentrações avaliadas, não houve alterações morfológicas prejudiciais às plântulas até os primeiros 40 dias de exposição (Figs. 1 e 2). A partir de 80 dias, as plântulas começaram a apresentar aspecto rosetado, resultado também observado por Canto *et al.* (2004) aos 30 dias da avaliação de concentrações de PBZ no cultivo *in vitro* de abacaxi (*Ananas comosus*).

Além disso, as plântulas submetidas ao PBZ apresentaram folhas com coloração verde escuro intenso, permitindo inferir que ocorreu aumento na quantidade de clorofila, uma vez que a redução da síntese de giberelina, por ação do inibidor, favorece a rota para produção de fitol, um terpenóide presente na molécula de clorofila (Chaney 2004).

A redução na biossíntese de giberelina também pode promover a diminuição no metabolismo vegetal (Marshall *et al.* 2000; Fletcher *et al.* 2000), ou seja, da taxa respiratória e, conseqüentemente, do ATP disponível, podendo causar a redução do crescimento das plantas (Bai & Chaney 2001). Esses efeitos, de acordo com análise de regressão, são observados pela tendência de redução tanto do comprimento da parte aérea, como da lâmina foliar, em todas as concentrações avaliadas de PBZ, resultando na redução de 47% da parte aérea (Fig. 3A) e 73% da lâmina foliar (Fig. 3B) em relação ao controle, aos 160 dias de experimento.

Em experimento utilizando diversas concentrações de PBZ em *Dendrobium*, Te-chato *et al.* (2009) observaram que as plântulas apresentaram entrenós mais curtos e pseudobulbos mais grossos. Efeitos semelhantes também foram relatados para cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) (Lorenzo *et al.* 1998, Lorenzo *et al.* 2001), abacaxi (*Ananas comosus*) (Feuser *et al.* 2001) e bromélias (*Vriesea reitzii* e *Vriesea gigantea*) (Rech Filho *et al.* 2003a, Rech Filho *et al.* 2003b).

Contudo, resultados mais expressivos foram encontrados por Canto *et al.* (2004), utilizando a concentração de 10,2 μM (3 mg.L^{-1}) de PBZ em culturas de *Chrysanthemum moriflorum* e *Beta vulgaris*, as quais

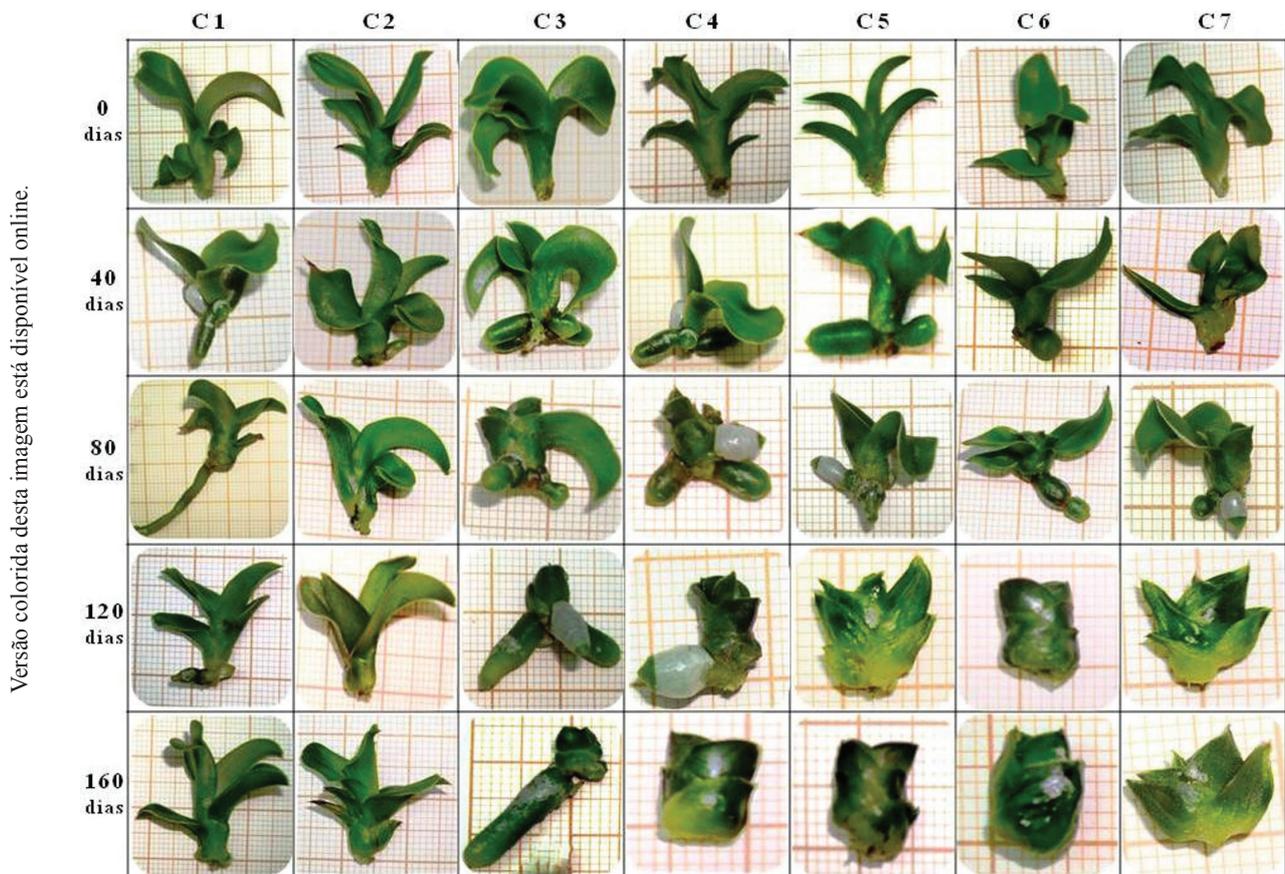


Figura 1. Características morfológicas de plântulas de *Cattleya labiata*, avaliadas em diferentes períodos (0, 40, 80, 120 e 160 dias), sob efeito das diferentes combinações de reguladores de crescimento: controle (C1); 1 mg.L^{-1} ANA + 1 mg.L^{-1} BAP (C2); 1 mg.L^{-1} de PBZ (C3); 2 mg.L^{-1} PBZ (C4); 4 mg.L^{-1} PBZ (C5); 6 mg.L^{-1} PBZ (C6) e 1 mg.L^{-1} ANA + 1 mg.L^{-1} BAP + 4 mg.L^{-1} PBZ (C7). Barra = 5 mm.

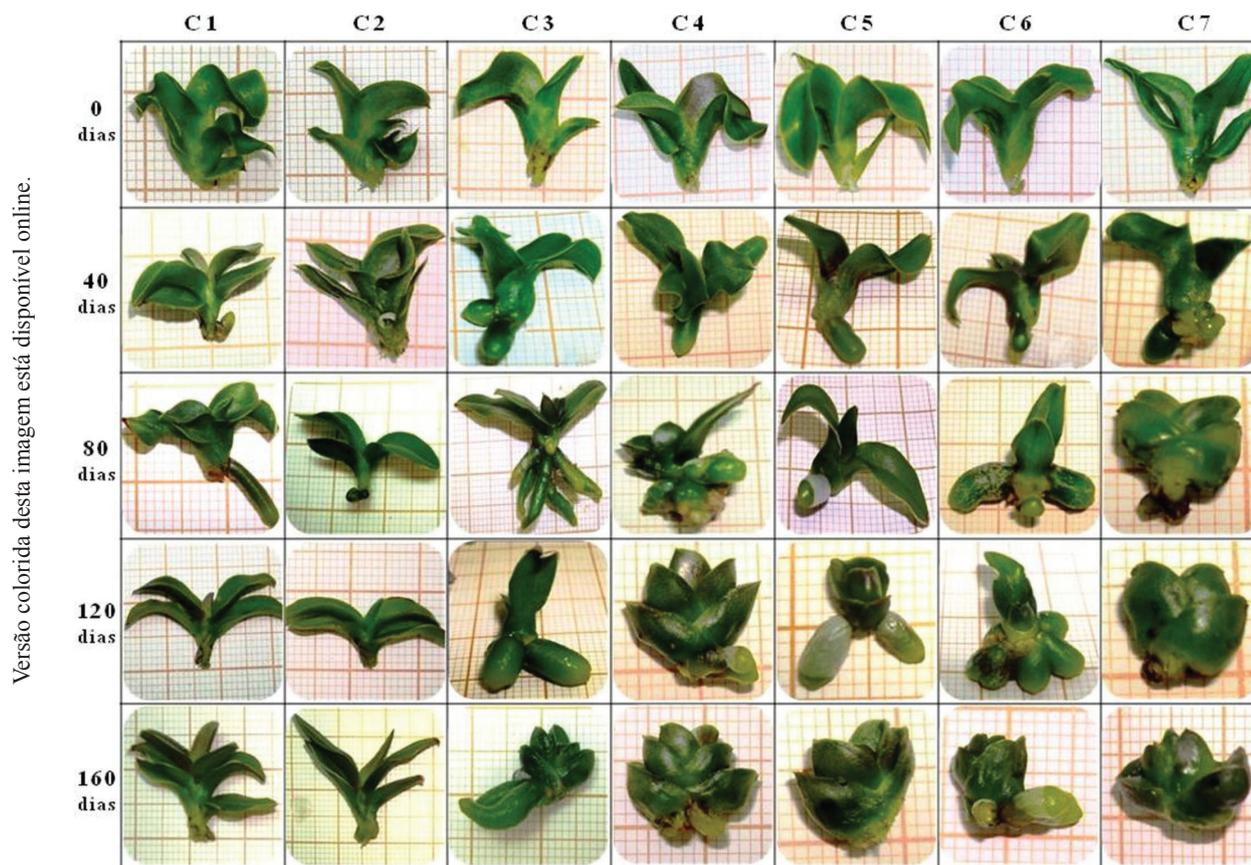


Figura 2. Características morfológicas de plântulas de *Cattleya eldorado* avaliadas nos diferentes períodos (0, 40, 80, 120 e 160 dias), sob efeito das diferentes combinações de reguladores de crescimento: controle (C1); 1 mg.L⁻¹ ANA + 1 mg.L⁻¹ BAP (C2); 1 mg.L⁻¹ de PBZ (C3); 2 mg.L⁻¹ PBZ (C4); 4 mg.L⁻¹ PBZ (C5); 6 mg.L⁻¹ PBZ (C6) e 1 mg.L⁻¹ ANA + 1 mg.L⁻¹ BAP + 4 mg.L⁻¹ PBZ (C7). Barra = 5 mm.

apresentaram 230% de redução no comprimento da parte aérea. Da mesma forma, utilizando 13,6 μ M (4 mg.L⁻¹) de PBZ em *Anadenanthera colubrina*, a redução de 290% no tamanho da parte aérea foi observada em relação ao meio de cultura sem adição de PBZ (Nepomuceno *et al.* 2007).

Os maiores comprimentos de raízes foram observados aos 80 dias em todos tratamentos (Fig. 3C). A presença de PBZ no meio de cultivo, mesmo reduzindo o comprimento da raiz em relação ao controle, promoveu aumento do diâmetro radicular (Fig. 1 e 2). Khunachak *et al.* (1987), ao incorporar PBZ ao meio de cultura, verificaram espessamento das raízes e redução do crescimento das hastes em aspargo (*Asparagus officinalis*), além do aumento no vigor das plântulas.

Aos 160 dias de cultivo, o maior comprimento radicular médio em ambas as espécies (*C. labiata* e *C. eldorado*) ocorreu na concentração de 1 mg.L⁻¹ de PBZ (C3), porém, foi significativamente superior ao controle somente para *C. eldorado* (Fig. 4).

Em cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), o uso de 3,4 μ M (1 mg.L⁻¹) de PBZ em biorreator de imersão temporária resultou em 57,8 brotos, enquanto no meio de cultura isento de PBZ houve formação de 23,9 brotos, em relação ao meio de cultura isento de PBZ (Lo-

renzo *et al.* 1998).

Os resultados para o número de brotações com os diferentes níveis de PBZ avaliados nos períodos indicaram comportamento semelhante e foram superiores ao controle (Fig. 3D). O tratamento mais eficiente quanto ao número de brotações foi a combinação de ANA (1 mg.L⁻¹) com BAP (1 mg.L⁻¹), corroborando com as observações de Galvanese *et al.* (2007) que ao trabalhar com *Aechmea blanchetiana*, observaram maior taxa de brotação sob as mesmas condições em meio de cultura MS semisólido. No tratamento com os três reguladores, provavelmente o PBZ suprimiu o efeito da aplicação de ANA e BAP, causando balanceamento hormonal menos favorável a brotações.

CONCLUSÃO

O paclobutrazol não promoveu alterações na parte aérea das plântulas até os 40 dias de cultivo, sendo que as alterações podem ser verificadas a partir de 80 dias de cultivo.

O meio de cultura MS suplementado com 1 mg.L⁻¹ PBZ por um período de 40 dias apresentou maior desenvolvimento e vigor do sistema radicular para as espécies *C. labiata* e *C. eldorado*, fator importante na fase de aclimatização.

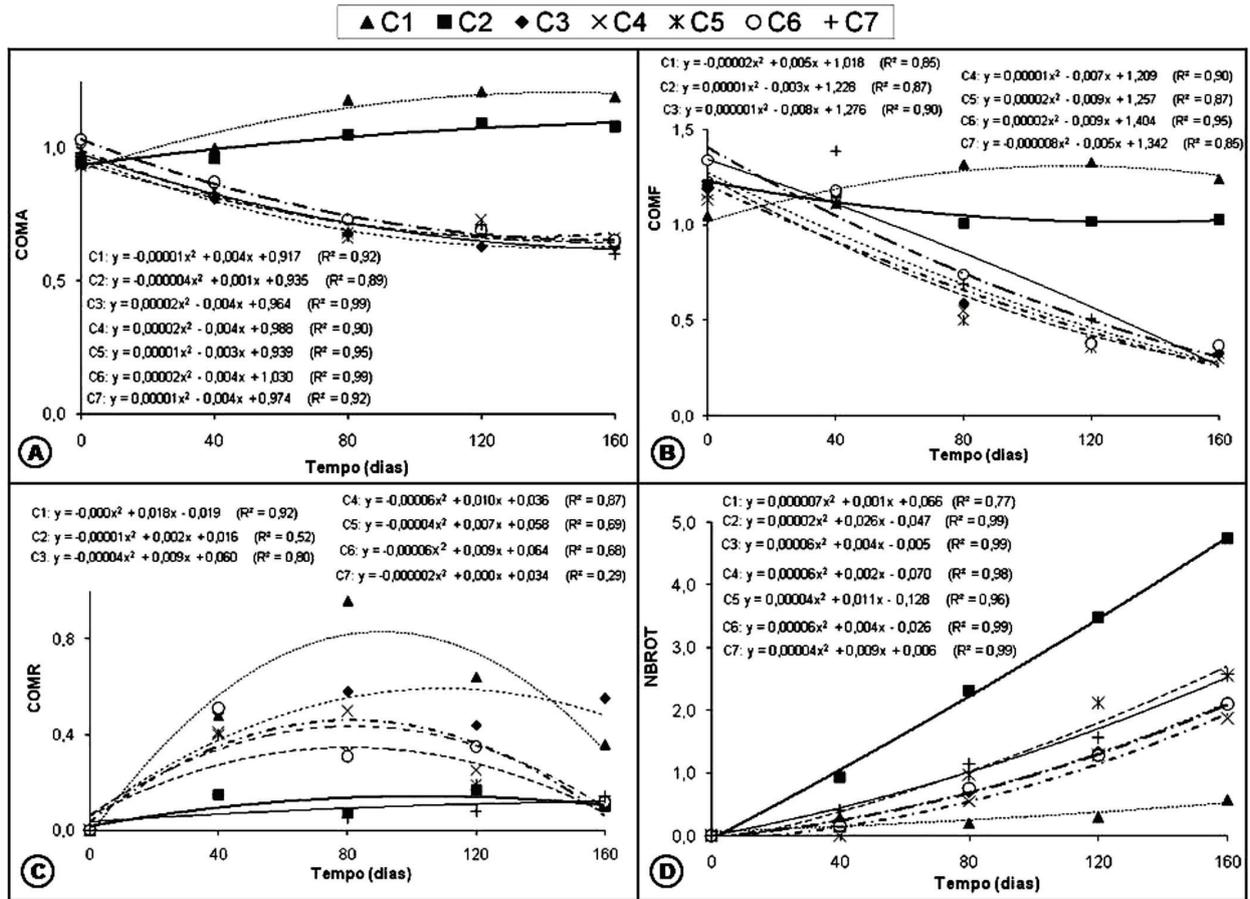


Figura 3. Parâmetros avaliados nas plântulas de *Cattleya eldorado* e *Cattleya labiata*, após diferentes períodos de tratamento (0, 40, 80, 120 e 160 dias) com diferentes combinações de reguladores de crescimento e PBZ. A. Comprimento da parte aérea (cm.explante⁻¹). B. Comprimento da lâmina foliar (cm.explante⁻¹). C. Comprimento da maior raiz (cm.explante⁻¹). D. Número de brotos. Abreviaturas: C1, controle; C2, 1 mg.L⁻¹ ANA + 1 mg.L⁻¹ BAP; C3, 1 mg.L⁻¹ PBZ; C4, 2 mg.L⁻¹ PBZ; C5, 4 mg.L⁻¹ PBZ; C6, 6 mg.L⁻¹ PBZ; C7, 1 mg.L⁻¹ ANA + 1 mg.L⁻¹ BAP + 4 mg.L⁻¹ PBZ.

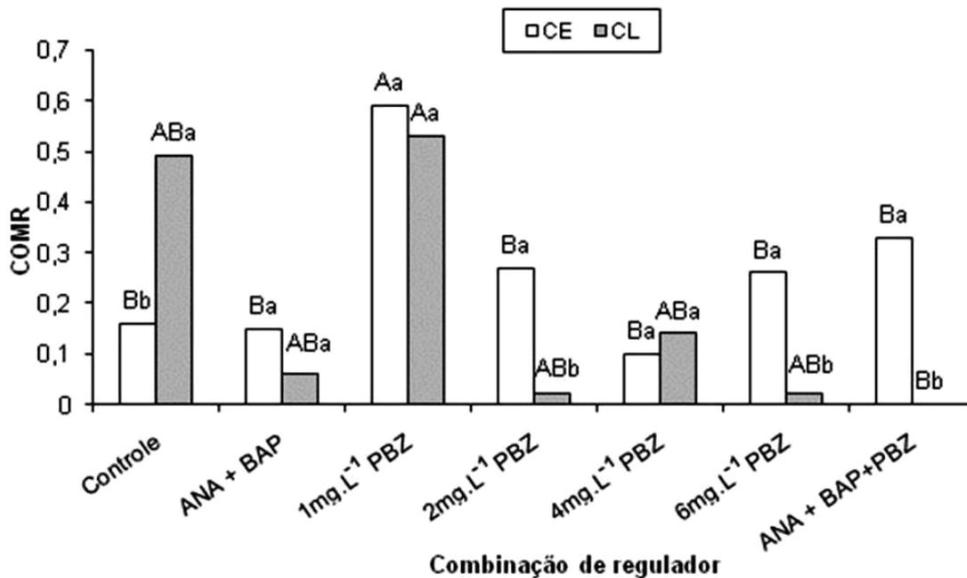


Figura 4. Comprimento médio das raízes (cm.explante⁻¹) de *Cattleya eldorado* e *Cattleya labiata* avaliadas aos 160 dias de exposição às diferentes combinações de reguladores de crescimento. Médias seguidas por mesma letra não diferem significativamente em nível de 5% de probabilidade de erro. Letras maiúsculas usadas para comparação entre espécies. Letras minúsculas usadas para comparação entre tratamentos.

REFERÊNCIAS

- BAI, S. & CHANEY, W. 2001. Gibberellin synthesis inhibitors affect electron transport in plant mitochondria. *Plant Growth Regulation*, 35: 257-262.
- BARROS, F., VINHOS, F., RODRIGUES, V. T., BARBERENA, F. F. V. A., FRAGA, C. N. 2010. Orchidaceae. In: *Lista de espécies da flora do Brasil*. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB011727>>
- BUTCHER, W.P. & INGRAN, D.S. 1976. Organs and embryos. In: *Plant Tissue Culture*. [s. l.]: **CIDADE?**: Edward Publishing Limited. p. 3-15.
- CANTO, A.M.M.E., SOUZA, F.V.D., COSTA, M.A.C., SOUZA, A.S., LEDO, C.A.S. & CABRAL, J.R.S. 2004. Conservação *in vitro* de germoplasma de abacaxi tratado com paclobutrazol. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39(7): 717-720.
- CHANEY, W.R. 2004. *Paclobutrazol: more than just a growth retardant*. Peoria: PRO-HORT CONFERENCE. 5 p.
- DIXON, R.A. 1985. Isolations and maintenance of callus and cell suspensions cultures. In: DIXON R.R. (Ed.) *Plant cell culture: a practical approach*. Washington DC: IRL Press. p. 1-20.
- EMBRAPA. 1990. *SOC - Software Científico*. Campinas: Núcleo Tecnológico para Informática Agropecuária/Embrapa.
- FARIAS, L.A. & RIBEIRO, R. 2000. Pôster apresenta orquídeas na Mata Atlântica. *O Mundo das Orquídeas*, 13: 43-45.
- FEUSER, S., NODARI, R. O. & GUERRA, M. P. 2001. Eficiência comparativa dos sistemas de cultura estacionária e imersão temporária para a micropropagação do abacaxizeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23: 6-10.
- FLETCHER, R.A., GILLEY, A., SANKHLA, N. & DAVIS, T.D. 2000. Triazole as plant growth regulators and stress protectants. *Horticulture Review*, 24: 55-138.
- GALVANESE, M.S., TAVARES, A.R., AGUIAR, F.F.A., KANASHIRO, S., CHU, E.P., STANCATO, G.C. & HARDER, I.C.F. 2007. Efeito de ANA, 6-BA e ágar na propagação *in vitro* de *Aechmea blanchetiana* (Baker) L.B. Smith, bromélia nativa da Mata Atlântica. *Revista Ceres*, 54(311): 63-67.
- KHUNACHAK, A., CHIN, C.K., LE, T. & GIANFAGNA, T. 1987. Promotion of asparagus shoot and root growth by growth retardants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 11(2): 97-110.
- LORENZO, J.C., BLANCO, M.A., PELÁEZ, O., GONZÁLEZ, A., CID, M., IGLESIAS, A., GONZÁLEZ, B., ESCALONA, M., ESPINOSA, P. & BORROTO, C. 2001. Sugarcane micropropagation and phenolic excretion. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 65: 1-8.
- LORENZO, J.C., GONZALEZ, B.L., ESCALONA, M., TEISSON, C., ESPINOSA, P. & BORROTO, C. 1998. Sugarcane shoot formation in an improved temporary immersion system. *Plant Cell Tissue*, 54: 197-200.
- MARSHALL, J.G., RUTLEDGE, R.G., BLUMWALD, E. & DUMBROFF, E.B. 2000. Reduction in turgid water volume in jack pine, white spruce and black spruce in response to drought and paclobutrazol. *Tree Physiology*, 20: 701-707.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapids growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3): 473-497.
- NEPOMUCENO, C.F., RIOS, A.P.S., QUEIROZ, S.R.O.D., PELACANI, C.R. & SANTANA, J.R.F. 2007. Controle da abscisão foliar e morfogênese *in vitro* em culturas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* (griseb) Altschul. *Revista Árvore*, 31(5): 967-975.
- RECH FILHO, A., LISCHKA, R.W., DAL VESCO, L.L. & GUERRA, M.P. 2003a. Micropropagação de *Vriesea reitzii* em biorreator de imersão temporária. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 1., 2003a, Lavras. *Anais...* Lavras, p. 212.
- RECH FILHO, A., LISCHKA, R. W., DAL VESCO, L. L., MÜLLER, C. V., ALVES, G. M., CUNHA, L. & GUERRA, M. P. 2003b. Efeitos do paclobutrazol na morfogênese *in vitro* de *Vriesea gigantea*. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 15(supl.1): 154.
- ROBERTS, A.V., WALKER, S., HORAN, I., SMITH, E.F. & MOTTLEY, J. 1992. The effect of growth retardants, humidity and lighting at stage III on stage IV of micropropagation in *Chrysanthemum* and rose. *Acta Horticulturæ*, 319: 153-158.
- SMITH, E.F., ROBERTS, A.V. & MOTTLEY, J. 1990. The preparation *in vitro* of *Chrysanthemum* for transplantation to soil. 2. Improved resistance to desiccation conferred by paclobutrazol. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 21: 133-140.
- SOUZA, A.V., PINTO, J.E.B.P., BERTOLUCCI, S.K.V., CORRÊA, R.M. & CASTRO, E.M. 2003. Germinação de embriões e multiplicação *in vitro* de *Lychnophora pinaster* Mart. *Ciência e Agrotecnologia*, 27: 1532-1538.
- TE-CHATO, S., NUJEEN, P. & MUANGSORN, S. 2009. Paclobutrazol enhance budbreak and flowering of Frederick's *Dendrobium orchid* *in vitro*. *Journal of Agricultural Technology*, 5(1): 157-165.