



HEMELYN SOARES MAGALHÃES

**DIODOS EMISSORES DE LUZ NO CRESCIMENTO *in vitro*
DE *Oncidium varicosum***

LAVRAS-MG

2024

HEMELYN SOARES MAGALHÃES

DIODOS EMISSORES DE LUZ NO CRESCIMENTO *in vitro* DE *Oncidium varicosum*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Moacir Pasqual

Orientador

Prof^a. Dr^a. Joyce Dória Rodrigues

Coorientadora

Dr. Filipe Almendagna Rodrigues

Coorientador

LAVRAS-MG

2024

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Magalhães, Hemelyn Soares.

Diodos emissores de luz no crescimento in vitro de *Oncidium varicosum* / Hemelyn Soares Magalhães. - 2024.

31 p.

Orientador(a): Moacir Pasqual.

Coorientador(a): Filipe Rodrigues, Joyce Dória.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2024.

Bibliografia.

1. Cultura de tecidos vegetais. 2. Orquídea. 3. Espectro luminoso. I. Pasqual, Moacir. II. Rodrigues, Filipe. III. Dória, Joyce. IV. Título.

HEMELYN SOARES MAGALHÃES

DIODOS EMISSORES DE LUZ NO CRESCIMENTO *in vitro* DE *Oncidium varicosum*

LIGHT EMITTING DIODES *in vitro* GROWTH OF *Oncidium varicosum*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 20 de fevereiro de 2024.

Dr. Moacir Pasqual UFLA

Dr^a. Michele Valquíria dos Reis UFLA

Dr^a. Claudinéia Ferreira Nunes UFMG

Prof. Dr. Moacir Pasqual

Orientador

Prof^a. Dr^a. Joyce Dória Rodrigues

Coorientadora

Dr. Filipe Almendagna Rodrigues

Coorientador

LAVRAS-MG

2024

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), pela oportunidade de realizar o Mestrado.

Aos meus orientadores, Moacir Pasqual e Filipe Almendagna, por me ajudarem na concepção do trabalho.

À Marli, da Secretaria de Pós-Graduação Agronomia/Fitotecnia, por todo empenho e ajuda.

Aos técnicos do Laboratório de Cultura de Tecidos, Celso e Vantuil, por todo auxílio, ensinamentos e dedicação.

À minha família, por todo incentivo e suporte, apesar da distância.

Aos meus amigos, pela ajuda, carinho, companheirismo e por deixarem essa experiência mais leve.

Ao meu gato Thomé, pelo apoio emocional.

A todos que contribuíram para a realização desta etapa tão importante na minha vida, muito obrigada!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

Oncidium varicosum é uma orquídea epífita nativa e endêmica do Brasil, sendo a cultura de tecidos uma técnica importante para o seu cultivo. A qualidade de luz é um dos fatores que afeta diretamente o crescimento das plantas *in vitro* e pode ser ajustada de acordo com os diodos emissores de luz (LEDs) utilizados. Entretanto, as respostas vegetais a essas luzes e às combinações entre elas variam de acordo com a espécie. Assim, objetivou-se analisar a influência dos diodos emissores de luz (LEDs) no crescimento *in vitro* de *Oncidium varicosum* var. *rogersii*, visando o florescimento da espécie. Para isso, foram avaliadas as características fitotécnicas, anatômicas e fisiológicas das plantas, após 90 dias de cultivo sob LEDs branco, vermelho, azul e roxo (2V:1A). Maior produção de massa fresca foi obtida em plantas cultivadas em LED roxo, enquanto o LED vermelho proporcionou maior comprimento de parte aérea e de brotos. O aumento dos teores de clorofila *a*, *b* e total e carotenoides também foram observados no LED roxo. Quanto à anatomia, as plantas cultivadas sob LED roxo apresentaram maiores espessuras de cutícula, epiderme, mesofilo e folha e maior área de ostíolo. As plantas cultivadas sob LED vermelho apresentaram maior densidade estomática e o LED azul permitiu maior funcionalidade estomática nas plantas. Conclui-se que o LED roxo é o mais indicado para o cultivo *in vitro* de *O. varicosum* var. *rogersii*, pois promove maior produção de massa fresca, aumento dos teores de pigmentos fotossintéticos e maiores espessuras de cutícula, epiderme, mesofilo e folha.

Palavras-chave: cultura de tecidos; orquídea; espectro luminoso; *Gomesa varicosa*.

ABSTRACT

Oncidium varicosum is an epiphytic orchid native and endemic to Brazil, with tissue culture being an important technique for its cultivation. Light quality is one of the factors that directly affects plant growth *in vitro* and can be adjusted according to the light-emitting diodes (LEDs) used. However, plant responses to these lights and combinations between them vary according to the species. Thus, the objective was to analyze the influence of light-emitting diodes (LEDs) on the *in vitro* growth of *Oncidium varicosum* var. *rogersii*, aiming for the flourishing of the species. For this, the phytotechnical, anatomical and physiological characteristics of the plants were evaluated after 90 days of cultivation under white, red, blue and purple (2R:1B) LEDs. Greater fresh mass production was obtained in plants grown under purple LED, while red LED provided greater length of shoots and shoots. Increased levels of chlorophyll *a*, *b* and total and carotenoids were also observed in purple LED. Regarding anatomy, plants grown under purple LED showed greater thickness of cuticle, epidermis, mesophyll and leaf and greater ostiole area. Plants grown under red LED showed greater stomatal density and blue LED allowed greater stomatal functionality in plants. It is concluded that the purple LED is the most suitable for the *in vitro* cultivation of *O. varicosum* var. *rogersii*, as it promotes greater production of fresh mass, increased levels of photosynthetic pigments and greater thickness of cuticle, epidermis, mesophyll and leaf.

Keywords: tissue culture, orchid, luminous spectrum, *Gomesa varicosa*.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REFERENCIAL TEÓRICO	9
2.1	<i>Oncidium varicosum</i>	9
2.2	Cultivo <i>in vitro</i> de orquídeas	9
2.3	Florescimento <i>in vitro</i> de orquídeas	10
2.4	Diodos emissores de luz (LEDs) no cultivo <i>in vitro</i> de plantas	11
2.5	Influência da luz na anatomia foliar	11
3	MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1	Multiplicação <i>in vitro</i>	12
3.2	Cultivo <i>in vitro</i> sob diferentes cores de LEDs	13
3.3	Avaliação fitotécnica	13
3.4	Avaliação fisiológica	13
3.5	Avaliação anatômica	14
3.6	Aclimatização	15
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
5	CONCLUSÕES	25
	REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

Oncidium varicosum (*Gomesa varicosa*) é uma espécie de orquídea epífita nativa e endêmica do Brasil, encontrada nos biomas Cerrado e Mata Atlântica. A espécie apresenta pseudobulbos ovalado-alongados e florescimento vistoso na cor amarela, com inflorescência e flores maiores na variedade *rogersii*. Além disso, pode ser cultivada em vasos, afixada em troncos de árvores e até mesmo utilizada como flor de corte, na composição de arranjos e buquês florais (Lorenzi; Souza, 2008).

Na natureza, a germinação das orquídeas é altamente dependente da associação simbiótica com fungos micorrízicos. Dessa forma, a técnica de germinação *in vitro* é muito eficaz para as orquídeas, sendo amplamente utilizada, pois garante um índice de germinação satisfatório bem como a produção de mudas de qualidade (Stancato; Bemelmans; Vegro, 2001). Além da germinação, outros métodos da cultura de tecidos vegetais, como a micropropagação e a conservação *in vitro*, são realizados para a multiplicação e preservação de orquídeas (Lal; Singh, 2021).

Nesse contexto, o florescimento *in vitro* tem se mostrado uma técnica promissora para as orquídeas. Visto que essas espécies apresentam um longo período juvenil, podendo demorar anos para florescer, o florescimento *in vitro* pode ser uma alternativa para reduzir esse tempo (Teixeira da Silva *et al.*, 2014a). Todavia, muitos fatores podem influenciar esse processo, não havendo ainda nenhum protocolo definido para promover o florescimento *in vitro* das orquídeas (Teixeira da Silva *et al.*, 2014c).

Para o sucesso do cultivo *in vitro* de plantas, a luz é um dos fatores mais importantes, pois influencia significativamente o metabolismo, crescimento e desenvolvimento vegetal (Landi *et al.*, 2020; Miler *et al.*, 2019). Assim, o uso de diodos emissores de luz (LEDs) torna-se muito interessante, pois permite o ajuste dos comprimentos de onda de acordo com os objetivos dos pesquisadores e produtores vegetais (Miler *et al.*, 2019).

Dessa forma, como a absorção máxima das clorofilas *a* e *b* ocorre nos espectros do vermelho e azul, muitos estudos utilizam essas luzes para verificar seus efeitos sobre as plantas (Cavallaro *et al.*, 2022). Enquanto a luz vermelha estimula as respostas fotossintéticas e o crescimento das plantas, a luz azul está relacionada com a abertura estomática e a síntese de clorofilas e carotenoides (Taiz *et al.*, 2017). Entretanto, as respostas fisiológicas a essas qualidades de luz e às combinações entre elas variam de acordo com a espécie (Lazzarini *et al.*, 2017).

Nesse sentido, o objetivo do trabalho foi analisar a influência dos diodos emissores de luz (LEDs) no crescimento *in vitro* de *Oncidium varicosum* var. *rogersii*, visando o florescimento da espécie.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Oncidium varicosum*

Orchidaceae é uma das maiores famílias de plantas com flores no mundo, englobando cerca de 25000 espécies e distribuídas em 736 gêneros (Chase *et al.*, 2015; Dressler, 2005). No Brasil, são encontradas 2662 espécies e 249 gêneros de Orchidaceae, distribuídos por todo país, especialmente no bioma Mata Atlântica (Flora e Funga do Brasil, 2023).

Diversos gêneros dessa família são cultivados como plantas ornamentais, incluindo o gênero *Oncidium*, que é nativo do Brasil (Souza; Lorenzi, 2005). No Brasil, há cerca de 31 espécies do gênero *Oncidium*, incluindo espécies endêmicas como *Oncidium varicosum*, encontrada nas regiões Nordeste, Sudeste e Sul do país, com ocorrência no Cerrado e Mata Atlântica (Meneguzzo, 2023).

Também conhecida como chuva-de-ouro, *Oncidium varicosum* é uma espécie epífita, com pseudobulbos ovalado-alongados e flores numerosas de cor amarela, apresentando inflorescência e flores maiores na variedade *rogersii*. Ela pode ser cultivada em vasos, afixada em troncos de árvores e até mesmo utilizada como flor de corte, na composição de arranjos e buquês florais (Lorenzi; Souza, 2008).

É importante destacar que, atualmente, o nome aceito para a espécie é *Gomesa varicosa*, sendo *Oncidium varicosum* seu basônimo (Flora e Funga do Brasil, 2023).

2.2 Cultivo *in vitro* de orquídeas

As sementes de orquídeas são microscópicas e na natureza a sua germinação é dependente da associação simbiótica com fungos micorrízicos (Chugh; Guha; Rao, 2009; Yam; Arditti, 2009). Nesse sentido, o cultivo *in vitro* auxilia na obtenção de maiores taxas de germinação das orquídeas e na propagação de plantas em grande escala e livres de patógenos (Chugh; Guha; Rao, 2009; Sarmah *et al.*, 2017).

Além de estar relacionada com a germinação e propagação, o cultivo *in vitro* é uma técnica importante para a conservação do germoplasma das orquídeas, seja a curto ou longo

prazo (Teixeira da Silva *et al.*, 2014b). Através de modificações das condições ambientais e do meio de cultivo, por exemplo, as técnicas *in vitro* colaboram para conservação de recursos genéticos ameaçados ou genótipos de interesse medicinal e ornamental (Teixeira da Silva *et al.*, 2014a, 2015).

Na micropropagação de orquídeas podem ser utilizadas diversas partes da planta, como segmentos do ápice caulinar, folhas, raízes e botões florais (Chugh; Guha; Rao, 2009). Além dos tipos de explantes, outros fatores como fotoperíodo, temperatura, reguladores de crescimento e os componentes do meio de cultura influenciam no sucesso do cultivo *in vitro*, mas podem ser modificados de acordo com a espécie trabalhada (Sarmah *et al.*, 2017; Teixeira da Silva *et al.*, 2015).

2.3 Florescimento *in vitro* de orquídeas

Geralmente, as orquídeas possuem crescimento lento e longo período juvenil, podendo levar anos para florescerem, sendo muito influenciadas pelo microclima no qual estão submetidas (Chugh; Guha; Rao, 2009). Tal característica representa um entrave, visto que o processo de florescimento deve ser controlado para atender as exigências do mercado consumidor (Teixeira da Silva *et al.*, 2015).

Nesse contexto, o florescimento *in vitro* apresenta-se como uma alternativa para reduzir o tempo necessário para a floração das orquídeas, o que é relevante não só para o comércio, mas também para agilizar o processo da produção de híbridos nos programas de melhoramento genético (Musharof Hossain *et al.*, 2013).

Na literatura são encontrados alguns trabalhos que obtiveram sucesso no florescimento *in vitro* de diferentes espécies de orquídeas dos gêneros *Dendrobium*, *Cymbidium* e *Psychmorhis* (Teixeira da Silva *et al.*, 2014a). Para o gênero *Oncidium*, Kerbauy (1984) foi o pioneiro e obteve o florescimento de *Oncidium varicosum* após cerca de 8 a 9 meses. Depois disso, outros autores também tiveram sucesso no florescimento *in vitro* de *Oncidium* Boissiensense (Tanaka; Yamada; Goi, 1986) e *Oncidium* ‘Gower Ramsey’ (Chen, 2012).

Contudo, muitos fatores estão envolvidos no florescimento *in vitro*. O sucesso desse processo é influenciado pelo tipo de explante, meio de cultura e seus componentes, como reguladores de crescimento, e também pelas condições de cultivo, como fotoperíodo e temperatura (Musharof Hossain *et al.*, 2013; Teixeira da Silva *et al.*, 2014c). Sendo assim, torna-se necessário realizar mais estudos na área, pois ainda não há protocolo definido para o florescimento *in vitro* de orquídeas (Teixeira da Silva *et al.*, 2014c).

2.4 Diodos emissores de luz (LEDs) no cultivo *in vitro* de plantas

Durante o seu crescimento e desenvolvimento, as plantas são influenciadas por mudanças de intensidade e comprimento de onda da energia luminosa, as quais estão submetidas, o que afetam seus processos bioquímicos e fisiológicos, bem como seu rendimento e qualidade (Dong *et al.*, 2014; Lazzarini *et al.*, 2017).

Em laboratórios de micropropagação, as lâmpadas fluorescentes brancas são as mais utilizadas como fonte de energia luminosa (Rocha; Oliveira; Scivittaro, 2015). Entretanto, os diodos emissores de luz (LEDs) são considerados uma alternativa promissora para substituírem as lâmpadas fluorescentes no cultivo de plantas *in vitro*, pois apresentam vantagens, como menor consumo de energia e possibilidade de ajuste da intensidade e qualidade da luz (Rocha *et al.*, 2017; Stefanel *et al.*, 2020; Yeh; Chung, 2009).

O controle dos comprimentos de ondas possibilitado pelos LEDs influencia a morfologia, composição e processos fisiológicos das plantas, como seu desenvolvimento vegetativo e a síntese de pigmentos fotossintéticos, podendo ser utilizado para otimizar a produção vegetal (Rocha *et al.*, 2017; Rocha; Oliveira; Scivittaro, 2015; Yeh; Chung, 2009).

Os LEDs permitem a utilização de diferentes qualidades luminosas no ambiente, como a luz vermelha, azul e combinações entre elas, o que afeta diferentemente a fisiologia das plantas, de acordo com a espécie estudada (Lazzarini *et al.*, 2017). Os comprimentos de onda azul e vermelho impulsionam a fotossíntese, visto que as moléculas de clorofila os absorvem de forma mais eficaz (Yeh; Chung, 2009). Como a luz vermelha afeta a morfogênese e a luz azul influencia na síntese de clorofila, a combinação entre elas se apresenta como uma boa alternativa para favorecer o desenvolvimento vegetal (Lazzarini *et al.*, 2017).

2.5 Influência da luz na anatomia foliar

A organização dos componentes foliares é influenciada por condições ambientais, como a luminosidade (Cutler *et al.*, 2011). Espécies com grande capacidade de adaptação conseguem alterar a estrutura de suas folhas em resposta a diferentes níveis de luz, o que influencia na eficiência do seu crescimento e desenvolvimento geral (Eburneo *et al.*, 2017).

As respostas das plantas em relação às mudanças da luminosidade dependem de fotorreceptores, os quais também estão relacionados com alterações da morfologia e estrutura celular, num processo chamado de fotomorfogênese. Entretanto, essas respostas variam de acordo com a espécie, genótipo e condições de cultivo (Landi *et al.*, 2020).

A anatomia foliar de monocotiledôneas depende das características do ambiente onde se desenvolvem e também do seu metabolismo fotossintético (Cutler *et al.*, 2011). Plantas que crescem em locais áridos, submetidas a estresse hídrico ou solo salino, apresentam folhas grossas e cutículas espessas, além de alterações nos estômatos e células epidérmicas, como forma de proteção contra o excesso de radiação luminosa e regulação da perda de água (Costa *et al.*, 2021; Cutler *et al.*, 2011).

Diferentes espectros de luz também podem provocar mudanças no crescimento e nas respostas fisiológicas das plantas (Landi *et al.*, 2020). Orquídeas cultivadas *in vitro* podem ter sua morfologia e anatomia alteradas dependendo dos comprimentos de onda utilizados durante o cultivo (Cybularz-Urban *et al.*, 2007).

Sendo assim, os diodos emissores de luz (LEDs) podem ser usados para controlar características, como as estruturas das folhas, de forma a incrementar a taxa fotossintética e a produção agrícola, além de contribuir com práticas agronômicas sustentáveis e em programas de melhoramento genético vegetal (Pang *et al.*, 2023).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, localizado no Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), na cidade de Lavras, Minas Gerais, Brasil.

3.1 Multiplicação *in vitro*

Plântulas de *Oncidium varicosum* var. *rogersii* advindas da germinação *in vitro* foram multiplicadas em meio MS (Murashige; Skoog, 1962) a cada 30 dias, em sala de crescimento com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 16 h e LED branco 6400 K ($\lambda=525$ nm), para posterior cultivo sob LEDs de diferentes cores.

Nessa etapa foi utilizado meio MS suplementado com 30 g L^{-1} de sacarose; 7 g L^{-1} de ágar; 2 g L^{-1} de carvão ativado; 4 mg L^{-1} de BAP (6- benzilaminopurina) e $0,1\text{ mg L}^{-1}$ de ANA (ácido naftaleno acético). O pH do meio foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem à 121°C por 20 min.

3.2 Cultivo *in vitro* sob diferentes cores de LEDs

Após três subcultivos, plântulas pré-estabelecidas de *Oncidium varicosum* var. *rogersii* com cerca de 7 cm foram inoculadas em frascos contendo 50 mL do mesmo meio utilizado durante a etapa de multiplicação.

Os frascos foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 h, sob quatro diodos emissores de luz (LED): LED branco 6400 K ($\lambda=525$ nm); LED azul ($\lambda=430$ nm); LED vermelho ($\lambda=670$ nm) e LED roxo (2 LEDs vermelhos: 1 LED azul).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e 12 repetições, sendo cada repetição representada por uma planta.

Após 90 dias, foram realizadas avaliações das características fitotécnicas, fisiológicas e anatômicas das plantas cultivadas *in vitro*.

3.3 Avaliação fitotécnica

A caracterização fitotécnica foi realizada com auxílio de balança analítica e paquímetro digital, e consistiu na avaliação da massa fresca (g); comprimento da parte aérea (CPA) (cm); comprimento da maior raiz (CR) (cm); número de raízes (NR); número de folhas (NF); número de brotos (NB) e comprimento dos brotos (CB) (cm).

3.4 Avaliação fisiológica

A análise fisiológica das plantas foi feita por meio da determinação dos teores de pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenoides). Para isso, amostras de folhas foram coletadas do terço superior (terceira e quarta folhas expandidas) das plantas em cada tratamento e, posteriormente, 0,05 g do material fresco foi colocada em tubos Falcon contendo 10 mL de acetona 80% para extração dos pigmentos. Os tubos foram envoltos por papel alumínio para evitar o contato da amostra com a luz e possível degradação dos pigmentos.

Após 24 h em geladeira à $\pm 4^\circ\text{C}$, os teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenoides ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) foram quantificados no Espectrofotômetro de Microplacas Multiskan GO, através da obtenção das leituras nos comprimentos de onda de 470, 645, 652 e 663 nm. Os teores dos pigmentos foram calculados usando os valores médios de massa, volume e

absorbância de cada tratamento analisado, de acordo com as seguintes equações (Lichtentaler; Welburn, 1983; Whithan *et al.*, 1971):

$$\text{Clorofila } a = [(12,72 * A_{663} - 2,59 * A_{645}) * V] / 1000 * W$$

$$\text{Clorofila } b = [(22,88 * A_{645} - 4,67 * A_{663}) * V] / 1000 * W$$

$$\text{Clorofila total} = \text{clorofila } a + \text{clorofila } b$$

$$\text{Carotenoides} = [(1000 * A_{470} - 3,27 * Cl a - 104 * Cl b) / 229] / 1000 * W$$

Onde:

A = absorbância no comprimento de onda indicado.

V = volume final (mL) do extrato (pigmentos + solução extratora).

W = massa fresca (g) do material vegetal utilizado.

3.5 Avaliação anatômica

A caracterização anatômica foi realizada no Laboratório de Anatomia Vegetal, localizado no Setor de Botânica da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

A análise foi realizada em três repetições de plantas, escolhidas aleatoriamente em cada tratamento, as quais foram fixadas em solução de FAA (5% formaldeído, 5% ácido acético e 90% álcool etílico) por 72 h e, posteriormente, conservadas em álcool 70%.

Os cortes paradérmicos foram realizados na face abaxial das lâminas foliares e os transversais na região do terço mediano das folhas, sendo efetuados à mão livre. Os cortes passaram pelo processo de clarificação com hipoclorito de sódio 50% e coloração com azul de alcian + safranina (transversais) e safranina (paradérmicos). As lâminas semipermanentes foram montadas com glicerina 50% e analisadas em microscópio de luz Nikon Eclipse E100 com câmera acoplada modelo INFINITY 1.

Nos cortes transversais foram feitas medições da área do feixe vascular (μm^2), área do floema (μm^2), área do xilema (μm^2), diâmetro (μm) e frequência de vasos do xilema, espessura da cutícula (adaxial e abaxial - μm), espessura do mesofilo (μm), espessura da epiderme (adaxial e abaxial - μm) e espessura da folha (μm).

Nos cortes paradérmicos foram determinados número de estômatos, número de células epidérmicas, diâmetro polar e equatorial dos estômatos (μm) e área do ostíolo (μm^2), sendo posteriormente calculada a densidade estomática (número de estômatos em 1 mm^2), índice de estômatos (n° de estômatos / (n° de estômatos + células epidérmicas) * 100) e funcionalidade estomática (diâmetro polar / diâmetro equatorial).

A coleta dos dados foi feita em triplicata por meio da análise de imagem, com auxílio do *software* ImageJ.

Os dados fitotécnicos, fisiológicos e anatômicos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade, utilizando o *software* estatístico SISVAR (Ferreira, 2011).

3.6 Aclimatização

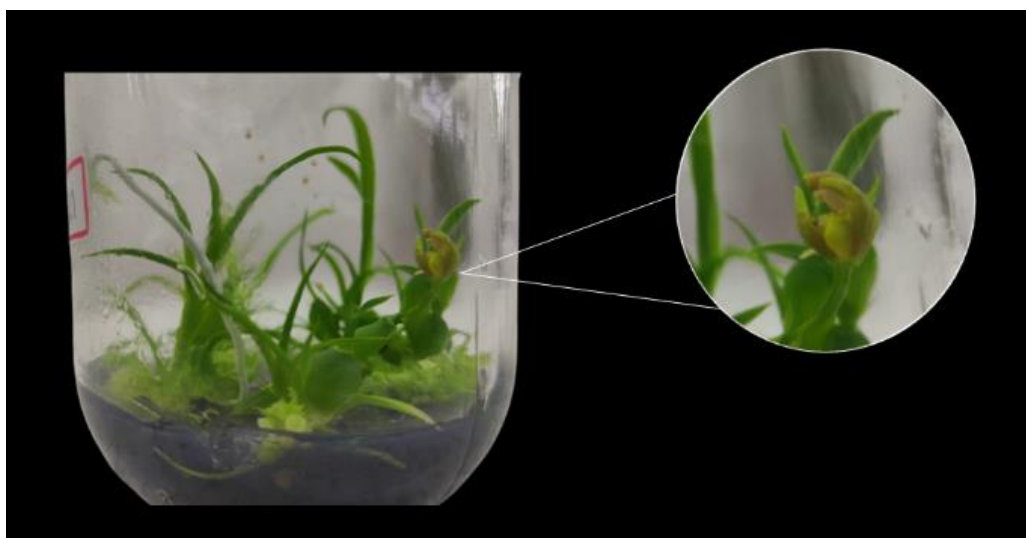
As plantas oriundas do cultivo *in vitro* foram transplantadas em bandejas plásticas de 50 células contendo substrato de esfagno. Após 6 meses em casa de vegetação, com 50% de sombreamento e irrigação constante, avaliou-se a taxa de sobrevivência das mudas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Florescimento *in vitro*

Durante o estágio de multiplicação foi verificado o surgimento de um botão floral em uma das plantas de *Oncidium varicosum* var. *rogersii* (Figura 1). Entretanto, houve o abortamento floral e no posterior cultivo *in vitro*, sob diferentes cores de LEDs, não foi observada a presença de botões florais.

Figura 1 – Florescimento *in vitro* de *Oncidium varicosum*



Fonte: Da autora (2024).

Na literatura são encontrados alguns trabalhos que obtiveram sucesso no florescimento *in vitro* de diferentes espécies de orquídeas dos gêneros *Dendrobium*, *Cymbidium* e *Psygmorchis* (Teixeira da Silva *et al.*, 2014a). Para o gênero *Oncidium*, Kerbauy (1984) foi o pioneiro e obteve o florescimento de *Oncidium varicosum* após cerca de 8 a 9 meses. Em seguida, outros autores também tiveram sucesso no florescimento *in vitro* de *Oncidium* Boissiensense (Tanaka; Yamada; Goi, 1986) e *Oncidium* ‘Gower Ramsey’ (Chen, 2012).

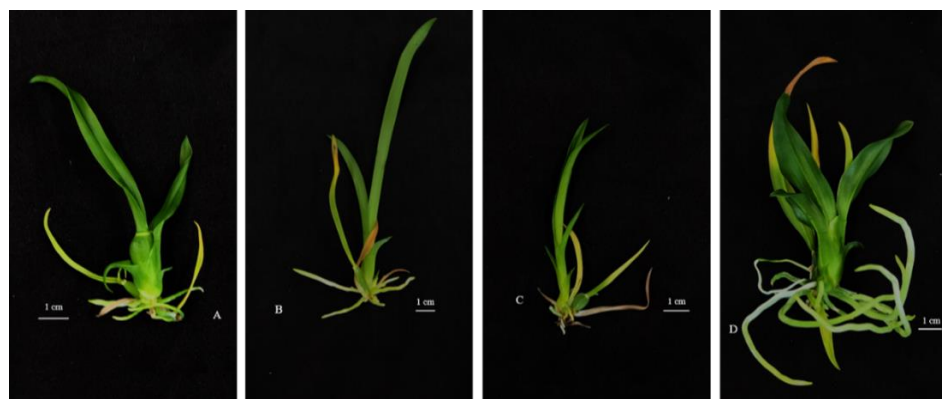
Contudo, muitos fatores estão envolvidos no florescimento *in vitro*. O sucesso desse processo é influenciado pelo tipo de explante, meio de cultura e seus componentes, como reguladores de crescimento, e também pelas condições de cultivo, como fotoperíodo e temperatura (Musharof Hossain *et al.*, 2013; Teixeira da Silva *et al.*, 2014c).

Mesmo utilizando o mesmo meio de cultura e as mesmas condições de cultivo, não houve sucesso na indução do florescimento posteriormente. Portanto, é necessária a realização de mais estudos na área, pois ainda não há protocolo definido para o florescimento *in vitro* de orquídeas.

4.2 Caracterização fitotécnica

As plantas cultivadas sob LED vermelho (Figura 2B) se apresentaram mais alongadas, com folhas mais estreitas de cor verde claro, semelhantes às plantas sob LED azul (Figura 2C). Já as plantas sob LED roxo (Figura 2D) demonstraram aparência mais compacta e folhas mais largas de cor verde escuro. As plantas sob LED branco (Figura 2A) exibiram características intermediárias quando comparadas com àquelas que cresceram sob LED vermelho (Figura 2B) e LED roxo (Figura 2D).

Figura 2 – Plantas de *Oncidium varicosum* cultivadas *in vitro* sob diferentes LEDs, após 90 dias. A) LED branco; B) LED vermelho; C) LED azul; D) LED roxo.



Fonte: Da autora (2024).

Em relação à análise fitotécnica, as plantas cultivadas sob LED roxo apresentaram maior produção de massa fresca (2,82 g), enquanto as plantas cultivadas sob LED vermelho apresentaram maior comprimento de parte aérea (CPA) e de brotos (CB), com 11,44 cm e 12,00 cm, respectivamente. Contudo, não houve diferença significativa entre os tratamentos para o número de folhas (NF) e número de brotos (NB) (Tabela 1).

O incremento na altura de plantas cultivadas sob luz vermelha é relatado em diversos estudos com orquídeas, como em *Oncidium* ‘Gower Ramsey’, híbrido de *Cattleya* (*Cattleya intermedia* × *C. aurantiaca*), *Oncidium* (*Onc.* ‘Sweet Sugar’) e *Epidendrum lilas* (Chung *et al.*, 2010; Cybularz-Urban *et al.*, 2007; Londe *et al.*, 2021; Xu; Cui, 2009).

O efeito da luz vermelha no crescimento da parte aérea vegetal parece estar relacionado com a inibição da ação da auxina e a regulação dos níveis de hormônios, como giberelina e citocinina, que influenciam no alongamento e divisão celular (Cavallaro *et al.*, 2022; Naderi Boldaji *et al.*, 2023; Manivannan *et al.*, 2015). Além disso, ao promover o maior acúmulo de carboidratos que são utilizados como fonte energética pelas plantas, o LED vermelho pode favorecer a multiplicação e crescimento vegetal (Mengxi *et al.*, 2011).

Entretanto, um maior crescimento não necessariamente origina plantas mais vigorosas sob luz vermelha. Como observado por Mengxi *et al.* (2011) em *Oncidium* “Gower Ramsey”, apesar das plantas sob luz vermelha terem apresentado maior altura, a utilização dessa luz não é recomendada, pois resulta em plantas fracas e morfologicamente anormais.

No que se refere ao comprimento radicular (CR), não houve diferença significativa entre as plantas do LED roxo (6,13 cm) e do LED vermelho (4,50 cm), as quais apresentaram melhores médias. O LED azul promoveu menor incremento no número (NR) e comprimento de raízes (Tabela 1).

Tabela 1 – Caracterização fitotécnica das plantas de *Oncidium varicosum* cultivadas *in vitro* sob diferentes LEDs.

LEDs	MF	CPA	CR	NR	NF	NB	CB
Branco	1,23 b	7,08 b	3,57 b	10,67 a	6,42 a	1,58 a	7,50 b
Vermelho	1,51 b	11,44 a	4,50 a	12,08 a	6,50 a	1,42 a	12,00 a
Azul	0,86 b	8,62 b	1,78 c	7,83 b	6,92 a	1,08 a	9,28 b
Roxo	2,82 a	8,17 b	6,13 a	13,17 a	5,50 a	1,25 a	9,66 b
CV (%)	51,79	24,23	49,94	39,30	34,64	43,79	36,52

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott à 5% de probabilidade. MF = massa fresca (g); CPA = comprimento da parte aérea (cm); CR = comprimento radicular (cm); NR = número de raízes; NF = número de folhas; NB = número de brotos; CB = comprimento dos brotos (cm).

Fonte: Da autora (2024).

A LED vermelha influenciou a formação de raízes de *Oncidium* ‘Gower Ramsey’ e *Cymbidium* Waltz ‘Idol’ (Chung *et al.*, 2010; Kamal *et al.*, 2014). Para *Cymbidium* Sweet Waffle ‘Tarte’, *C. dayanum*, *C. finlaysonianum* e híbrido de *Cattleya* (Cybularz-Urban *et al.*, 2007; Nahar *et al.*, 2016; Ona *et al.*, 2021), o melhor resultado foi obtido sob LED azul. Entretanto, a combinação dos espectros vermelho e azul foi favorável para o processo de enraizamento de *Dendrobium Sonia*, *Oncidium* (*Onc.* ‘Sweet Sugar’) e *Oncidium* ‘Gower Ramsey’ (Billore *et al.*, 2017; Mengxi *et al.*, 2011; Xu; Cui, 2009). Assim, para *Oncidium* spp., a luz vermelha e a associação dos espectros vermelho e azul parecem estimular a formação radicular.

Além de ancorarem a planta no solo, as raízes são responsáveis pela absorção de água e nutrientes vitais para o crescimento vegetal. Elas possuem a capacidade de se adaptarem de acordo com a condição em que se encontram, tendo sua arquitetura e crescimento modificados para a melhor obtenção dos recursos (Taiz *et al.*, 2017). As orquídeas ainda apresentam uma epiderme especializada nas raízes, chamada velame, que é capaz de absorver água da atmosfera (Cortez; Silva; Chaves, 2016).

Dessa forma, o crescimento radicular está associado com a maior assimilação de nutrientes e água, que impactam diretamente na produção de fitomassa. Como observado, as plantas que foram cultivadas sob LED roxo apresentaram maior comprimento da raiz e maior acúmulo de massa fresca.

O crescimento vegetal é influenciado por diferentes interações entre os receptores de luz vermelha e luz azul, variando de acordo com a espécie. Isso ocorre porque as clorofilas *a* e *b* possuem absorção máxima nos espectros vermelho e azul, o que influencia na fotossíntese, crescimento e propagação de plantas (Cavallaro *et al.*, 2022). Como observado nesse trabalho, a combinação de luz vermelha e azul (LED roxo) influenciou positivamente as características fitotécnicas das plantas de *Oncidium varicosum* cultivadas *in vitro*.

4.3 Caracterização fisiológica

Maiores teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenoides foram obtidos em plantas de *Oncidium varicosum* cultivadas sob LED roxo (Tabela 2). O alto teor de clorofila das plantas sob LED roxo refletiu na obtenção de plantas com coloração de verde mais escuro quando comparadas ao demais tratamentos, visto que essa molécula é responsável pela cor verde das plantas (Taiz *et al.*, 2017).

Tabela 2 – Pigmentos fotossintetizantes (mg.g⁻¹) das plantas de *O. varicosum* cultivadas *in vitro* sob diferentes LEDs.

LEDs	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila total	Carotenoides
Branco	0,10 b	0,03 b	0,13 b	0,05 b
Vermelho	0,06 b	0,02 b	0,08 b	0,03 b
Azul	0,08 b	0,03 b	0,11 b	0,03 b
Roxo	0,39 a	0,16 a	0,55 a	0,14 a
CV (%)	76,29	86,21	78,52	61,13

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott à 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

Os pigmentos fotossintéticos absorvem a luz que impulsiona os eventos fotoquímicos da fotossíntese. As clorofilas *a* e *b* apresentam absorção máxima nos comprimentos de onda da região vermelha e azul. Ademais, a luz vermelha é importante para o desenvolvimento do aparato envolvido na fotossíntese, estimulando as respostas fotossintéticas, enquanto a luz azul influencia na formação dos cloroplastos e a síntese das clorofilas e carotenoides (Al Murad *et al.*, 2021; Taiz *et al.*, 2017). Assim, é possível compreender porque a combinação dos espectros vermelho e azul do LED roxo favoreceu o aumento dos teores dos pigmentos avaliados.

Além de auxiliar na captação de energia luminosa, os carotenoides atuam como fotossensibilizadores, auxiliando na eliminação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e na proteção das plantas contra a fotoinibição (Taiz *et al.*, 2017). Em *Dendrobium officinale* (Lin *et al.*, 2011) aumentos nos teores de carotenoides também foram encontrados quando as luzes vermelhas e azuis foram combinadas.

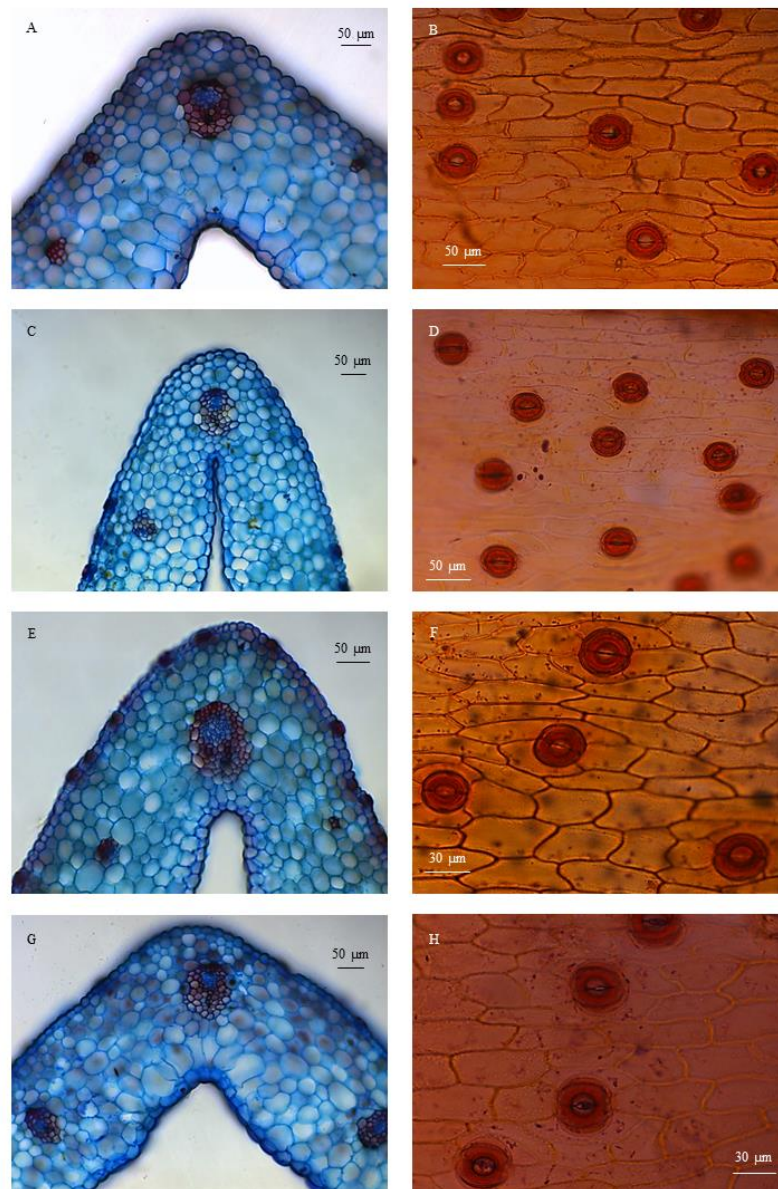
Apesar de não ter sido avaliado diretamente neste trabalho, o aumento do conteúdo dos pigmentos fotossintéticos pode resultar em maior eficiência fotossintética e, conseqüentemente, maior crescimento vegetal e acúmulo de massa fresca e seca (Cavallaro *et al.*, 2022; Satari *et al.*, 2022). Dessa forma, pode-se recomendar a utilização do LED roxo visando a obtenção de maiores teores de pigmentos fotossintéticos, os quais desempenham funções essenciais para o melhor funcionamento e desenvolvimento vegetal.

4.4 Caracterização anatômica

Oncidium varicosum possui folhas alongadas, coriáceas e conduplicadas, que apresentam formato de ‘V’ quando seccionadas transversalmente (Silva; Silva, 2010). A epiderme é formada por uma camada única de células homogêneas e recoberta por cutícula. O

mesofilo é uniforme, constituído por células arredondadas e oblongas de 7-9 camadas, com feixes vasculares do tipo anfigasal, em que o floema é circundado pelo xilema. Os estômatos, localizados na face abaxial da folha, são do tipo paracítico e se encontram no mesmo nível das células da epiderme. Entretanto, foi possível observar que *O. varicosum* apresenta plasticidade anatômica, pois as diferentes cores de LED utilizadas influenciaram nas características anatômicas das plantas cultivadas *in vitro* (Figura 3).

Figura 3 – Corte transversal e paradérmico de plantas de *Oncidium varicosum* cultivadas *in vitro* sob diferentes LEDs. A, B) LED branco; C, D) LED vermelho; E, F) LED azul; G, H) LED roxo.



Fonte: Da autora (2024).

De maneira geral, todas as folhas apresentam estômatos, mesofilo e tecido vascular. Entretanto, a organização e características desses componentes são influenciadas pelas condições ambientais de onde crescem e refletem respostas funcionais e adaptativas das plantas (Cutler *et al.*, 2011; Manokari *et al.*, 2023).

No que se refere aos parâmetros analisados, não houve diferença significativa entre os tratamentos em relação à área do feixe vascular (μm^2), área do floema (μm^2) e frequência dos vasos do xilema. As plantas cultivadas sob LED vermelho e LED roxo apresentaram maior área do xilema (μm^2). Já as plantas sob LED azul apresentaram menor diâmetro do xilema (μm) (Tabela 3).

Tabela 3 – Área dos feixes vasculares (μm^2), diâmetro (μm) e frequência do xilema das plantas de *O. varicosum* cultivadas *in vitro* sob diferentes LEDs.

LEDs	Área do feixe vascular	Área do floema	Área do xilema	Diâmetro do xilema	Frequência do xilema
Branco	7823,70 a	1205,51 a	6618,19 b	16,55 a	65,00 a
Vermelho	8970,27 a	1429,46 a	7540,80 a	16,46 a	66,44 a
Azul	8001,30 a	1776,54 a	6224,77 b	14,48 b	51,67 a
Roxo	9456,55 a	1445,02 a	8011,53 a	15,90 a	63,00 a
CV (%)	19,01	29,13	19,72	19,25	23,95

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott à 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

O xilema e o floema são os principais tecidos do sistema vascular e estão envolvidos no transporte de substâncias pelas plantas. O xilema atua no transporte de água e solutos dissolvidos, armazenamento de nutrientes e suporte mecânico. Já o floema é responsável pela condução de assimilados sintetizados pelos vegetais (Cutler *et al.*, 2011; da Glória; Guerreiro, 2022).

As características anatômicas dos feixes vasculares podem ser utilizadas para avaliar a eficiência das plantas para se adaptarem a um ambiente com estresse hídrico, por exemplo. Segundo Queiroz-Voltan *et al.* (2014), a maior frequência de vasos do xilema favorece o transporte de água e sais minerais e reduz a chance de embolia em situações de restrição hídrica, quando associada ao seu menor diâmetro, como foi observado nas plantas sob LED azul.

A área, o diâmetro e a frequência dos vasos condutores estão associados ao crescimento vegetativo das plantas, visto que, mudanças nos padrões de vascularização influenciam nos seus processos fisiológicos (Santarosa *et al.*, 2016). Assim, destaca-se a maior eficiência das plantas

cultivadas sob LED vermelho e LED roxo no transporte de água e solutos, fundamentais para o crescimento vegetal, o que foi comprovado com a obtenção dos maiores comprimentos de parte aérea e raiz sob estas LEDs (Tabela 1).

No que se refere às espessuras de cutícula, epiderme, mesofilo e folha (μm), de maneira geral, as plantas cultivadas no tratamento de LED roxo apresentaram resultados superiores em todas as análises (Tabela 4).

Tabela 4 – Espessura da cutícula, epiderme, mesofilo e folha (μm) das plantas de *O. varicosum* cultivadas *in vitro* sob diferentes LEDs.

LEDs	Cutícula adaxial	Cutícula abaxial	Epiderme adaxial	Epiderme abaxial	Mesofilo	Folha
Branco	3,34 a	2,94 a	17,19 a	19,85 b	247,94 b	291,25 b
Vermelho	2,77 b	2,91 a	14,31 b	21,75 b	259,00 b	300,74 b
Azul	2,58 b	2,17 b	16,76 a	21,72 b	236,63 b	279,86 b
Roxo	3,44 a	2,72 a	17,93 a	24,52 a	292,88 a	341,48 a
CV (%)	22,19	25,76	17,11	21,41	13,93	12,03

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

A presença de mesofilo mais espesso, como ocorreu nas folhas de plantas sob LED roxo, pode auxiliar nos processos fotossintéticos por favorecer o aumento do teor de clorofila e eficiência de absorção de luz, em adição ao transporte de gases e armazenamento de água (Costa *et al.*, 2021; Mustika; Semiarti, 2021).

Além disso, a maior espessura da cutícula é uma estratégia de proteção das plantas contra a perda de água e o excesso de luminosidade, evitando o superaquecimento do mesofilo (da Glória; Guerreiro, 2022; Costa *et al.*, 2021).

As plantas cultivadas *in vitro* normalmente apresentam cutícula mais fina, mas podem apresentar maior desenvolvimento do tecido dependendo da qualidade da luz, o que resulta em ganhos na aclimatização (Nadal *et al.*, 2023). Sendo assim, as plantas provenientes do cultivo sob LED roxo podem apresentar maior sucesso na etapa de adaptação às condições externas de campo.

As plantas cultivadas sob LED vermelho apresentaram maior densidade estomática (mm^2). Em relação ao índice de estômatos, expresso em porcentagem, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5 – Densidade estomática (mm^2) e índice de estômatos (%) de *O. varicosum* cultivado *in vitro* sob diferentes LEDs.

LEDs	Densidade estomática	Índice de estômatos
Branco	74,62 b	7,72 a
Vermelho	92,24 a	7,45 a
Azul	80,16 b	6,87 a
Roxo	72,13 b	7,15 a
CV (%)	24,78	18,39

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott à 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

Em orquídeas, a atividade estomática está intimamente relacionada com a adaptação das plantas ao ambiente em que se encontram, sendo que informações sobre a densidade, índice e tamanho dos estômatos podem auxiliar na taxonomia das espécies (Hegde; Krishnaswamy, 2021).

Além das folhas espessas e cutícula desenvolvida, folhas de plantas xerófitas apresentam maior densidade estomática (da Glória; Guerreiro, 2022). Nesses casos, as plantas possuem maior densidade de estômatos na face abaxial para evitar a incidência direta da luz solar e reduzir a perda de água durante a transpiração (Kurniawan; Santoso, 2020). Dessa forma, a densidade estomática afeta os processos metabólicos das plantas, pois também interfere na quantidade de CO_2 fixada na fotossíntese (Fauziah *et al.*, 2022).

Nesse contexto, é possível concluir que as plantas que cresceram sob LED vermelho apresentam características de adaptação ao estresse hídrico, o que pode favorecer seu processo de aclimatização, visto que sairão de uma condição *in vitro* com menor disponibilidade hídrica para um ambiente *ex vitro* (Eburneo *et al.*, 2017).

As plantas cultivadas sob LED branco apresentaram maiores diâmetros polar e equatorial (μm), enquanto as plantas sob LED roxo apresentaram maior área do ostíolo (μm^2). Em relação à funcionalidade estomática, as plantas cultivadas sob LED azul apresentaram resultado superior aos demais (Tabela 6).

Tabela 6 – Diâmetros dos estômatos (μm), área do ostíolo (μm^2) e funcionalidade estomática de *O. varicosum* cultivado *in vitro* sob diferentes LEDs.

LEDs	Diâmetro polar	Diâmetro equatorial	Área do ostíolo	Funcionalidade estomática
Branco	31,76 a	27,23 a	14,99 b	1,18 b
Vermelho	27,76 c	25,13 b	13,11 b	1,11 c
Azul	29,79 b	24,42 b	13,83 b	1,23 a
Roxo	28,91 b	25,77 b	17,92 a	1,13 c
CV (%)	8,97	11,64	32,04	8,90

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

Os estômatos são formados por duas células-guarda reniformes com um ostíolo no centro e estão relacionados com as trocas gasosas e movimento da água nos vegetais. É através do ostíolo que ocorre a comunicação entre o interior das plantas e o ambiente externo, sendo que o tamanho do ostíolo é regulado por alterações no formato das células-guarda (Cutler *et al.*, 2011; da Glória; Guerreiro, 2022).

A relação entre os diâmetros polar e equatorial dos estômatos indica sua funcionalidade. Estômatos com tamanhos e poros menores realizam as trocas gasosas com menor perda de água. Dessa forma, estômatos com formato elíptico possuem maior funcionalidade do que aqueles que possuem formato arredondado (Eburneo *et al.*, 2017). Portanto, podemos concluir que os estômatos das plantas que cresceram sob LED azul tendem a ter formato elíptico.

Estômatos menores associados com uma maior densidade estomática são características relacionadas à adaptação ambiental das plantas a ambientes secos (Bahrul Ulum *et al.*, 2023), e foram observadas nas plantas do tratamento de LED vermelho.

Apesar de apresentarem maior área do ostíolo, a menor densidade estomática e a cutícula desenvolvida observadas nas plantas cultivadas sob LED roxo podem favorecer baixas taxas de transpiração e maior economia de água, o que também permite um bom desenvolvimento das plantas perante estresse hídrico (Eburneo *et al.*, 2017).

4.5 Aclimatização

Após 6 meses em casa de vegetação, todos os tratamentos apresentaram uma taxa de sobrevivência das plantas de 75%. Entretanto, observou-se que as plantas advindas do cultivo sob LED vermelho mantiveram maior comprimento, enquanto as plantas do LED roxo exibiram

folhas de verde mais escuro e pseudobulbo mais desenvolvido. Sendo assim, é necessário observar as plantas por um período maior de tempo para melhor avaliar a influência das LEDs no desenvolvimento e florescimento das plantas após a etapa de aclimatização.

5 CONCLUSÕES

É possível induzir o florescimento *in vitro* de *Oncidium varicosum* var. *rogersii*, entretanto são necessários estudos futuros para definir o protocolo de cultivo.

A combinação dos espectros vermelho e azul (LED roxo) é a mais indicada para o cultivo *in vitro* de *Oncidium varicosum* var. *rogersii*, pois promove maior produção de massa fresca, aumento dos teores de pigmentos fotossintéticos e maiores espessuras de cutícula, epiderme, mesofilo e folha.

REFERÊNCIAS

- AL MURAD, M. *et al.* Light emitting diodes (LEDs) as agricultural lighting: Impact and its potential on improving physiology, flowering, and secondary metabolites of crops. **Sustainability**, v. 13, n. 4, p. 1985, 2021.
- BAHRUL ULUM, F.; SETYATI, D.; SU'UDI, M. Epiphytic ferns and orchids adaptation mechanism based on stomatal structure and chlorophyll content in Urban Forest of Jember University, Indonesia. **Life Science and Biotechnology**, v. 1, n. 1, p. 10-15, 2023.
- BILLORE, V.; JAIN, M.; SUPRASANNA, P. Monochromic radiation through light-emitting diode (LED) positively augments *in vitro* shoot regeneration in Orchid (*Dendrobium sonia*). **Canadian Journal of Biotechnology**, v. 1, n. 2, p. 50, 2017.
- CAVALLARO, V. *et al.* Light and plant growth regulators on *in vitro* proliferation. **Plants**, v. 11, n. 7, p. 844, 2022.
- CHASE, M. W. *et al.* An updated classification of Orchidaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 177, n. 2, p. 151–174, 2015.
- CHEN, J. Induction of petal-bearing embryos from root-derived callus of *Oncidium* ‘Gower Ramsey’. **Acta physiologiae plantarum**, v. 34, p. 1337-1343, 2012.
- CHUGH, S.; GUHA, S.; RAO, I. U. Micropropagation of orchids: A review on the potential of different explants. **Scientia Horticulturae**, v. 122, p. 507–520, 2009.
- CHUNG, J. P.; HUANG, C.Y.; DAI, T. E. Spectral effects on embryogenesis and plantlet growth of *Oncidium* ‘Gower Ramsey’. **Scientia horticulturae**, v. 124, n. 4, p. 511-516, 2010.
- CORTEZ, P. A.; SILVA, D. C.; CHAVES, A. L. F. **Manual prático de morfologia e anatomia vegetal**. Ilhéus, BA: Editora da UESC, 2016.
- COSTA, K. P. A. *et al.* Crescimento e anatomia foliar de *Cymbidium* sp. cultivadas em diferentes condições de luz. Leaf growth and anatomy of *Cymbidium* sp. cultivated in different light conditions. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 11, p. 108690-108703, 2021.
- CUTLER, D. F.; BOTHA, T.; STEVENSON, D. W. **Anatomia vegetal: uma abordagem aplicada**. Artmed Editora, 2011.
- CYBULARZ-URBAN, T.; HANUS-FAJERSKA, E.; SWIDERSKI, A. Effect of light wavelength on *in vitro* organogenesis of a *Cattleya* hybrid. **Acta Biologica Cracoviensia**, v. 49, n. 1, p. 113-118, 2007.
- DONG, C. *et al.* Low light intensity effects on the growth, photosynthetic characteristics, antioxidant capacity, yield and quality of wheat (*Triticum aestivum* L.) at different growth stages in BLSS. **Advances in Space Research**, v. 53, n. 11, p. 1557–1566, 2014.
- DRESSLER, R. L. How many orchid species? **Selbyana**, p. 155-158, 2005.

- EBURNEO, L. *et al.* Anatomy and micromorphometric analysis of leaf *Catasetum x apolloi* Benelli & Grade with addition of potassium silicate under different light sources. **Brazilian Journal of Biology**, v. 77, p. 140-149, 2017.
- FAUZIAH, A. de A.; SETIARI, N.; SAPTININGSIH, E. Analysis effect of shade level on the physiological and anatomical characteristics of hybrid *Phalaenopsis* orchid at the acclimatization stage. **Kultivasi**, v. 21, n. 2, p. 239-242, 2022.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, p. 1039-1042, 2011.
- FLORA E FUNGA DO BRASIL. *Orchidaceae in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB179>>. Acesso em: 13 set. 2023.
- GLÓRIA, B. A.; GUERREIRO, CSM. **Anatomia vegetal**. Universidade de São Paulo. ESALQ, 2022.
- HEGDE, S. M.; KRISHNASWAMY, K. Measurement of stomatal density stomatal index in some species of terrestrial orchids. **Ann Agri Bio Res**, v. 26, n. 2, p. 173-177, 2021.
- KAMAL, M. M.; SHIMASAKI, K.; AKTER, N. Effect of light emitting diode (LED) lamps and N-Acetylglucosamine (NAG) on organogenesis in protocorm-like bodies (PLBs) of a *Cymbidium* hybrid cultured *in vitro*. **Plant Tissue Culture and Biotechnology**, v. 24, n. 2, p. 273-277, 2014.
- KERBAUY, G. B. *In vitro* flowering of *Oncidium varicosum* mericlones (Orchidaceae). **Plant science letters**, v. 35, n. 1, p. 73-75, 1984.
- KURNIAWAN, Febri Yuda; SANTOSO, Agung Dwi. Stomata profile comparisons in abaxial and adaxial zones of *Dendrobium aphyllum* and *Arachnis flos-aeris* leaves. **Biota: Biologi dan Pendidikan Biologi**, v. 13, n. 2, p. 103-113, 2020.
- LAL, N.; SINGH, M. Prospects of Plant Tissue Culture in Orchid Propagation: A Review. **Article in Indian Journal of Biology**, 2021.
- LANDI, M. *et al.* Plasticity of photosynthetic processes and the accumulation of secondary metabolites in plants in response to monochromatic light environments: A review. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1861, n. 2, p. 148131, 2020.
- LAZZARINI, L. E. S. *et al.* Uso de diodos emissores de luz (led) na fisiologia de plantas cultivadas–revisão. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 16, n. 2, p. 137-144, 2017.
- LICHTENTHALER, H. K.; WELLBURN, A. R. Determinations of total carotenoids and chlorophyll *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**, v. 11, p. 591–593, 1983.
- LIN, Y.; LI, J.; LI, B.; HE, T.; CHUN, Z. Effects of light quality on growth and development of protocorm-like bodies of *Dendrobium officinale* *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 105, p. 329-335, 2011.

LONDE, L. C. N.; ROCHA, S. S.; PIMENTA, S.; CALAES, J. G. Espectros luminosos e BAP (6-benzilaminopurina) no cultivo *in vitro* de orquídeas *Epidendrum lilas*. **Circular Técnica Embrapa**, n. 334, 2021.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. de. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 2008.

MANOKARI, M. *et al.* Microstructural and histochemical modifications in leaves at successive stages of *in vitro* development of the terrestrial orchid *Spathoglottis plicata* Blume. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, p. 1-14, 2023.

MENEGUZZO, T. E. C. *Gomesa in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB11943>>. Acesso em: 13 set. 2023.

MENGXI, L.; ZHIGANG, X.; YANG, Y.; YIJIE, F. Effects of different spectral lights on *Oncidium* PLBs induction, proliferation, and plant regeneration. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 106, p. 1-10, 2011.

MILER, N. *et al.* Application of wide-spectrum light-emitting diodes in micropropagation of popular ornamental plant species: A study on plant quality and cost reduction. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 55, p. 99-108, 2019.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

MUSHAROF HOSSAIN, M. *et al.* The Application of Biotechnology to Orchids. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 32, n. 2, p. 69–139, 2013.

MUSTIKA, N. D.; SEMIARTI, E. *In vitro* culture of *Dendrobium lineale* Rolfe orchid for plant breeding and propagation. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 913, n. 1, 2021.

NADAL, M. C. *et al.* Impacto de luzes monocromáticas no desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya walkeriana* e seus efeitos na fase de aclimatização. **Ornamental Horticulture**, v. 29, n. 2, p. 240-250, 2023.

NAHAR, S. J.; HAQUE, S. M.; KAZUHIKO, S. Application of chondroitin sulfate on organogenesis of two *Cymbidium* spp. under different sources of lights. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 8, n. 2, p. 156-160, 2016.

ONA, A. F.; SHIMASAKI, K., EMTEAS, M. A., AFM, J. Effects of different LED lights on the organogenesis of a *Cymbidium* cultivar. **Environmental Control in Biology**, v. 59, n. 4, p. 197-201, 2021.

PANG, Y. *et al.* CO₂ mesophyll conductance regulated by light: a review. **Planta**, v. 258, n. 1, p. 11, 2023.

QUEIROZ-VOLTAN, R. B. *et al.* Caracterização da anatomia foliar de cafeeiros arábica em diferentes períodos sazonais. **Biotemas**, v. 27, n. 4, p. 1-10, 2014.

ROCHA, P. S. G. DA *et al.* Uso de LEDs na multiplicação *in vitro* de três cultivares de bananeira. **Revista Colombiana de Ciências Hortícolas**, v. 11, n. 2, p. 247–252, 2017.

ROCHA, P. S. G.; OLIVEIRA, R. P. de; SCIVITTARO, W. B. New light sources for *in vitro* potato micropropagation. **Original Article Biosci. J**, n. 5, p. 1312–1318, 2015.

SAAD, A. I.; ELSHAHED, A. M. Plant tissue culture media. In: **Recent advances in plant in vitro culture**. [s.l.: s.n.]. p. 30–40, 2012.

SANTAROSA, E. *et al.* Alterações anatômicas do sistema vascular em porta-enxertos de videira. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 51, p. 320-329, 2016.

SARMAH, D. *et al.* A Review on: *In vitro* cloning of orchids establishment of suitable molecular marker for selection of rice genotypes tolerant to cold stress at seedling stage View project. **Article in International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, 2017.

SATARI, A. *et al.* Role of night interruption lighting and NPK application on growth and flowering of *Phalaenopsis*. **South African Journal of Botany**, v. 150, p. 88-98, 2022.

SILVA, M. F. F. F.; SILVA, J. B. F. **Orquídeas Nativas da Amazônia Brasileira**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2010.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. 2005.

STANCATO, G. C.; BEMELMANS, P. F.; VEGRO, C. L. R. Vista do Produção de mudas de Orquídeas a partir de sementes *in vitro* e sua viabilidade econômica: estudo de caso. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, p. 25–33, 2001.

STEFANEL, C. M. *et al.* Diodos emissores de luz (LEDS) no cultivo *in vitro* de *Eugenia involucrata*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 40, n. 0, 2020.

TAIZ, L. *et al.* **Fundamentos de Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017.

TANAKA, M.; YAMADA, S.; GOI, M. Morphological observation on vegetative growth and flower bud formation in *Oncidium* Boissiensis. **Scientia horticultrurae**, v. 28, n. 1-2, p. 133-146, 1986.

TEIXEIRA DA SILVA, J. A. *et al.* *In vitro* flowering of orchids. **Crit Rev Biotechnol**, v. 34, n. 1, p. 56–76, 2014a.

TEIXEIRA DA SILVA, J. A. *et al.* *In vitro* conservation of *Dendrobium* germplasm. **Plant Cell Reports**, v. 33, n. 9, p. 1413–1423, 2014b.

TEIXEIRA DA SILVA, J. A. *et al.* *In vitro* flowering of *Dendrobium*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 119, n. 3, p. 447–456, 15 jul. 2014c.

TEIXEIRA DA SILVA, J. A. *et al.* *Dendrobium* micropropagation: a review. **Plant Cell Reports**, v. 34, n. 5, p. 671–704, 2015.

WHITMAN, R. V. Resistance of soil to liquefaction and settlement. **Soils and Foundations**, v. 11, n. 4, p. 59-68, 1971.

XU, Z.G.; CUI, J. Effects of different spectral energy distribution on tissue culture of *Oncidium in vitro*. **Journal of Beijing Forestry University**, v. 31, n. 4, p. 45-50, 2009.

YAM, T. W.; ARDITTI, J. History of orchid propagation: a mirror of the history of biotechnology. **Plant Biotechnology Reports**, v. 3, n. 1, p. 1–56, 2009.

YEH, N.; CHUNG, J. P. High-brightness LEDs—Energy efficient lighting sources and their potential in indoor plant cultivation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, n. 8, p. 2175–2180, 2009.