



COLÉGIO ESTADUAL JARDIM PORTO ALEGRE

**USO DE EXTRATOS VEGETAIS COMO ACELERADOR DE
ORQUÍDEAS NO CULTIVO *IN VITRO* E DESENVOLVIMENTO DE
KEIKIS- FASE II**

BEATRIZ MARIA FERREIRA DOS SANTOS

TOLEDO – PR

2025

**COLÉGIO ESTADUAL JARDIM PORTO ALEGRE - ENSINO
FUNDAMENTAL, MÉDIO E PROFISSIONAL
CLUBE DE CIÊNCIAS CIENTISTAS DO JARDIM**

Discente:

BEATRIZ MARIA FERREIRA DOS SANTOS

Orientadora:

DIONÉIA SCHAUREN

Coorientador:

LEANDRO MARCELO MIGLIORETTO

**USO DE EXTRATOS VEGETAIS COMO ACELERADOR DE
ORQUÍDEAS NO CULTIVO *IN VITRO* E DESENVOLVIMENTO DE
KEIKIS- FASE II**

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a minha orientadora Dionéia Schauren e ao meu coorientador Leandro Marcelo Miglioretto pelo auxílio, pelo apoio e pelas oportunidades que suas orientações me fornecem, assim como agradeço ao CNPQ, que me forneceu bolsa de iniciação científica e me possibilitou vivenciar a pesquisa ainda no ensino médio e participar de feiras de ciências e vivenciar momentos inesquecíveis.

SANTOS, Beatriz Maria Ferreira. **Uso de extratos vegetais como acelerador de orquídeas no cultivo *in vitro* e desenvolvimento de keikis- fase II.** 2025. 51 folhas. Clube de Ciências Cientistas do Jardim – Colégio Estadual Jardim Porto Alegre. Toledo, Paraná, Brasil. 2025

RESUMO

A família Orchidaceae representa uma das maiores famílias de plantas floríferas e constitui o grupo mais avançado da superordem Liliiflorae. Algumas são facilmente encontradas no mercado devido à sua facilidade de obtenção. No entanto, em sua maioria, as orquídeas são plantas de difícil propagação, por isso, o cultivo *in vitro* torna-se uma alternativa para obter mudas, porém com um custo elevado. Além disso, o tempo de crescimento das orquídeas é bastante longo, sendo que uma planta pode levar de 3 a 10 anos para que ocorra a primeira floração. Buscando reduzir o tempo e o custo de cultivo, este projeto analisa a utilização dos extratos vegetais de *Kalanchoe blossfeldiana*, *Kalanchoe delagoensis*, *Phyllanthus niruri*, *Habranthus robustus* e *Portulaca oleracea* durante o cultivo *in vitro* e os extratos vegetais de *Kalanchoe daigremontiana*, *Pilea microphylla*, *Vinca*, *Taraxacum officinale*, *Lantana camara*, *Bidens pilosa*, *Kalanchoe blossfeldiana*, *Kalanchoe delagoensis*, *Habranthus robustus* Herb ex e *Portulaca oleracea* na produção de keikis (brotos que nascem de uma haste ou pseudobulbo que se desenvolvem de forma assexuada e se transformam em uma nova planta) de *Dendrobium nobile*, além disso, comparamos a eficácia do meio alternativo DIO (meio de cultivo *in vitro* de orquídeas de baixo custo e preparo desenvolvido no Colégio Estadual Jardim Porto Alegre) em duas espécies distintas de orquídeas e também com o meio comercial de cultivo *in vitro* MS/2. Os extratos vegetais foram preparados nas quantidades de 100, 150, 200 e 250g/L. Para todos os testes no meio alternativo DIO utilizamos as orquídeas *Cattleya walkeriana* e *Epidendrum cristatum*, enquanto para o meio MS/2 também foi utilizada a orquídea *Cattleya walkeriana*. Ao todo foram 21 tratamentos para cada espécie de orquídea e o meio MS/2, somando mais um tratamento, todos com 8 repetições cada. Após a preparação dos meios, extratos e inserção das sementes, o desenvolvimento foi monitorado semanalmente, sendo observadas as germinações e possíveis contaminações. Ao final, foi realizada a análise estatística, que é feita com o sistema SISVAR com 0,05% de insignificância e o teste de média de Scott-Knott. Os resultados presentes para a produção de keikis são satisfatórios pois a aplicação de extratos vegetais influenciou diferentes aspectos do desenvolvimento vegetativo. Não houve efeito significativo sobre a floração, mas o crescimento foliar, tamanho do keiki, comprimento radicular e número de keikis foram positivamente afetados por tratamentos específicos, especialmente T20 (*Portulaca oleracea* 200 g/L) e T28 (*Kalanchoe blossfeldiana* 200 g/L). Esses efeitos são atribuídos à presença de

fitormônios e compostos bioativos nos extratos. Além disso, alguns tratamentos reduziram a oxidação dos pseudobulbos, sugerindo efeito antioxidante. Os dados indicam que extratos vegetais podem atuar como bioestimulantes, promovendo crescimento e multiplicação vegetativa. Já os resultados preliminares para o *cultivo in vitro* demonstram que o tratamento do meio DIO agregado ao extrato vegetal de *Portulaca oleracea* a 150 g/L (T19) favoreceu a germinação das sementes de ambas as espécies de orquídeas, enquanto os controles (MS/2 e meio DIO sem extratos) não apresentaram indícios de germinação.

Palavras-Chave: Fitormônios; Propagação; Sustentabilidade.

SANTOS, Beatriz Maria Ferreira. **Use of plant extracts as an accelerator of orchids in *in vitro* cultivation and development of keikis - phase II.** 2025. 51 pages. Science Club of Scientists of the Garden - Colégio Estadual Jardim Porto Alegre. Toledo, Paraná, Brazil. 2025

ABSTRACT

The Orchidaceae family represents one of the largest families of flowering plants and constitutes the most advanced group of the superorder Liliiflorae. Some are readily available on the market due to their ease of obtaining. However, most orchids are difficult to propagate, so *in vitro* cultivation is an alternative for obtaining seedlings, albeit at a high cost. Furthermore, orchids take a long time to grow, with a plant taking 3 to 10 years to flower for the first time. Seeking to reduce cultivation time and cost, this project analyzes the use of plant extracts from *Kalanchoe blossfeldiana*, *Kalanchoe delagoensis*, *Phyllanthus niruri*, *Habranthus robustus*, and *Portulaca oleracea* during *in vitro* cultivation, and plant extracts from *Kalanchoe daigremontiana*, *Pilea microphylla*, *Vinca*, *Taraxacum officinale*, *Lantana camara*, *Bidens pilosa*, *Kalanchoe blossfeldiana*, *Kalanchoe delagoensis*, *Habranthus robustus* Herbex, and *Portulaca oleracea* in the production of keikis (shoots that grow from a stem or pseudobulb that develop asexually and transform into a new plant) of *Dendrobium nobile*. In addition, we compare the effectiveness of the alternative medium DIO (a low-cost and prepared *in vitro* orchid culture medium developed at Colégio Estadual Jardim Porto Alegre) in two distinct orchid species and also with the commercial *in vitro* culture medium. MS/2. Plant extracts were prepared in quantities of 100, 150, 200, and 250 g/L. For all tests in the alternative DIO medium, we used the orchids *Cattleya walkeriana* and *Epidendrum cristatum*, while for the MS/2 medium, we also used the orchid *Cattleya walkeriana*. In total, there were 21 treatments for each orchid species and the MS/2 medium, adding one additional treatment, all with eight replicates each. After preparing the media, extracts, and seed insertion, development was monitored weekly, observing germination and possible contamination. Finally, statistical analysis was performed using the SISVAR system with 0.05% insignificance and the Scott-Knott mean test. The present results for keiki production are satisfactory because the application of plant extracts influenced various aspects of vegetative development. There was no

significant effect on flowering, but leaf growth, keiki size, root length, and number of keikis were positively affected by specific treatments, especially T20 (*Portulaca oleracea* 200 g/L) and T28 (*Kalanchoe blossfeldiana* 200 g/L). These effects are attributed to the presence of phytohormones and bioactive compounds in the extracts. Furthermore, some treatments reduced pseudobulb oxidation, suggesting an antioxidant effect. The data indicate that plant extracts can act as biostimulants, promoting growth and vegetative multiplication. Preliminary results for *in vitro* cultivation demonstrate that the treatment of DIO medium added to *Portulaca oleracea* plant extract at 150 g/L (T19) favored seed germination of both orchid species, while the controls (MS/2 and DIO medium without extracts) showed no signs of germination.

Keywords: Phytohormones; Propagation; Sustainability.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Germinação do T19 R2 de <i>Epidendrum cristatum</i>	28
Figura 2: Germinação do T19 R6 de <i>Cattleya walkeriana</i>	28
Figura 3: Tratamento contendo o meio MS/2.	29
Figura 4: Tratamento do meio DIO sem adição de extratos.	29

LISTA DE FLUXOGRAMA

Fluxograma 1: Fecundação das cápsulas e lavagem dos frascos.....	20
Fluxograma 2: Preparo do meio MS/2.	22
Fluxograma 3: Preparo dos extratos para o cultivo in vitro do meio DIO.	22
Fluxograma 4: Preparo do meio DIO.	23
Fluxograma 5: Semeadura.	24
Fluxograma 6: Preparo dos pseudobulbos.	25
Fluxograma 7: Preparo dos extratos para produção de keikis.....	25

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1: Tratamentos e suas respectivas concentrações para o cultivo <i>in vitro</i> do meio DIO de <i>Cattleya walkeriana</i> e <i>Epidendrum cristatum</i>	21
Tabela 2: Tratamentos e suas respectivas concentrações para a produção de keikis nos pseudobulbos de <i>Dendrobium nobile</i>	26
Tabela 3: Análise estatística da variável tamanho da folha.	31
Tabela 4: Análise estatística da variável tamanho do keiki.	34
Tabela 5: Análise estatística da variável tamanho da raiz.	35
Tabela 6: Análise estatística da variável número de keikis.	38
Tabela 7: Análise estatística da oxidação dos pseudobulbos.	40

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

DIO- Desenvolvimento *in vitro* de orquídeas.

MS/2- Meio de cultivo *in vitro* Murashige e Skoog com meia concentração de seus componentes.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 EXTRATIVISMO	15
2.2 RELEVÂNCIA COMERCIAL	15
2.3 MÉTODOS DE CULTIVO <i>IN VITRO</i> COMERCIAIS	16
2.4 ASSOCIAÇÃO DOS FITORMÔNIOS	16
3. OBJETIVO	18
3.1 OBJETIVO GERAL	18
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	18
4. METODOLOGIA.....	20
5. RESULTADOS	28
6. CONCLUSÃO.....	43
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

1. INTRODUÇÃO

“As populações de orquídeas são frequentemente pequenas e dispersas, ou hiperdispersas” (Raventos *et al*, 2011, p. 165). Diversas hipóteses foram propostas para esse padrão característico, muitas das quais estão relacionadas à dinâmica da vegetação e atributos das espécies. Por exemplo, a rara produção de frutos, o extenso alcance da dispersão, o regime diferencial de chuvas e a perturbação antrópica podem ser responsáveis pelas desigualdades de riqueza e abundância de espécies de orquídeas com baixa densidade populacional (Hietz, 1997, p. 338; Neiland & Wilcock, 1998, p. 1667; Hietz *et al*, 2006, p. 836; Winkler *et al*, 2009, p. 274). Em Orchidaceae, os padrões espaciais dentro das populações epífitas são diretamente ligados a fatores ecofisiológicos (Otero *et al*, 2007, p. 170), sendo que a germinação das sementes e o estabelecimento das plântulas é criticamente dependente da presença de fungos micorrízicos (Rasmussen & Rasmussen, 2009, p. 207).

“No Brasil, existem mais de 240 gêneros e 2459 espécies de orquídeas presentes em todos os biomas e formações vegetais, sendo que 1628 espécies são endêmicas” (Barros *et al*, 2014, p. 04). A movimentação financeira global decorrente da exploração comercial das orquídeas ocorre sob a forma de comércio de mudas, flores, perfumes, propriedades medicinais e culinárias, estimando-se em dezenas de bilhões de dólares.

Entre as orquídeas mais populares comercialmente encontram-se as *Oncidium*, *Dendrobium*, *Cymbidium* e *Phalaenopsis*, que compõem o mercado de orquídeas de maneira predominante em flores de vasos nos EUA, representando cerca de 75%. O mercado de orquídeas, em geral, acumulou US\$ 100 milhões em 2000, enquanto a comercialização somente de *Dendrobium* e *Phalaenopsis* no ano seguinte atingiu o mesmo valor nos EUA (Griesbach, 2002, p. 1221). “A produção da *Phalaenopsis* também aumentou em outros países como o Japão, Alemanha, China, Holanda e Tailândia. Segundo dados econômicos, em 2001, a Tailândia exportou cerca de 20 milhões de plantas” (Hsu, 2001, p. 975).

“Aproximadamente 95% das orquídeas comercializadas legalmente são originadas de propagação artificial” (Clemente-Munoz, 2009, p. 88). A relevância das mudas e flores de orquídeas é incontestável e gera movimentação de valores altíssimos no mundo todo. Os fitormônios são sinalizadores para indução de diversos processos fisiológicos necessários ao metabolismo vegetal, incluindo compostos como ácidos abscísicos, auxinas, citocininas, giberelinas, estrigolactonas,

brassinosteroides, ácido jasmônico, ácido salicílico e etileno, além de polipeptídeos, aminoácidos, polissacarídeos e sideróforos (Toribio *et al*, 2020, p. 531) “e outros metabólitos secundários” (Vaishampayan *et al*, 2001, p. 482). “No entanto, o uso dos hormônios comerciais pode aumentar o custo de cultivo” (Scaloppi Junior, 2007, p. 85).

“O tempo de cultivo da orquídea pode levar de 3 a 10 anos para alcançar a primeira floração, dependendo da espécie, dificultando ainda mais sua propagação, além de ser a razão pela qual muitos produtores desistem de cultivar orquídeas” (Ferreira e Suzuki, 2008, p. 187). Assim, a utilização de extratos vegetais com índices de fitormônios pode se tornar uma alternativa de baixo custo para auxiliar o desenvolvimento das plântulas durante o cultivo *in vitro*, aclimação e em plantas adultas. Sendo, portanto, viável para projetos que buscam a reprodução e recolocação das orquídeas em extinção na natureza ou para produção em larga escala, beneficiando pequenos comércios e floricultores.

“Os meios de cultura alternativos permitem a produção de mudas com um custo reduzido, podendo ter a mesma eficácia ou até mesmo serem superiores aos comerciais” (Dronk, 2004, p. 207). “Os fitormônios podem ajudar no crescimento e desenvolvimento de folhas e raízes, possuindo potencial para diminuir o tempo de cultivo e produzir mudas de qualidade superior” (Mouco; Ono; Rodrigues, 2011, p. 1046). “Além disso, a utilização de reguladores de crescimento no período *in vitro* pode reduzir a taxa de mortalidade das mudas durante a aclimação, pois pode favorecer um melhor desenvolvimento do sistema radicular, cutículas e formação de estômatos funcionais” (Gonçalves, 2010, p. 103; Faria *et al.*, 2012, p. 56; Souza e Karsburg, 2017, p. 168).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EXTRATIVISMO

As orquídeas apresentam distribuição cosmopolita, embora a maior diversidade ocorra nas florestas tropicais. Podem ocupar diversos ambientes como terrícolas, epífitas, rupícolas e raramente mico heterotróficas, devido a existência de várias modificações adaptativas em diferentes órgãos, como presença de caules, folhas ou pseudobulbos espessados, raízes com velame (Pinheiro *et al.* 2004, p. 3).

Não obstante o fato de serem integrantes da maior família de plantas com flores, as orquídeas estão entre as mais severamente ameaçadas de extinção, sendo que a vulnerabilidade resultaria de diversas causas, sendo as principais: o ciclo de vida altamente especializado, como, por exemplo, longo período vegetativo até atingir a fase reprodutiva, sementes com pouca ou nenhuma reserva, a germinação de sementes dependente da associação com fungos micorrízicos, e a ação humana por meio da destruição do habitat, derrubando árvores e florestas, além da coleta indiscriminada de orquídeas na natureza (Ferreira e Suzuki, 2008, p. 187).

O Brasil apresenta uma grande diversidade de orquídeas, principalmente epífitas, entretanto muitas dessas espécies encontram-se em risco de extinção devido à destruição de seus habitats, às coletas predatórias ou ao uso de agroquímicos que afetam seus polinizadores naturais. Dessa forma, as plantas permanecem em áreas de floresta preservada, embora não se reproduzam, pois não ocorre a polinização nem a formação de cápsulas com sementes (Raven *et al.*, 2001, p. 1507).

2.2 RELEVÂNCIA COMERCIAL

As rosas e as orquídeas são as flores mais tradicionais e de maior apelo junto ao consumidor final. Além de apresentarem profusão de cores, as orquídeas têm sua força tanto na mística, quanto interação – para alguns segmentos, essa atividade adquire ares de terapia. Na literatura científica, as orquídeas recebem o status de “biologicamente eternas”. Elas crescem, florescem, se reproduzem e não morrem – há plantas que acompanham gerações. Assim, cuidar delas é relativamente fácil, mesmo para quem não detém conhecimentos específicos (Reis, 2011, p. 03)

Nos últimos cinco anos, as vendas de orquídeas têm aumentado, ao contrário de todas as outras culturas ornamentais. Em 1957, James Shoemaker afirmou que "o

cultivo de orquídeas ainda não atingiu totalmente a transição de um hobby para uma indústria". Hoje, o cultivo de orquídeas é mais do que apenas uma indústria, é um negócio internacional e consolida-se como importante atividade econômica em várias regiões do país, especialmente os interiores do Estado de São Paulo (Griesbach, 2002, p. 1221; Reis, 2011, p. 03). "Segundo Hew & Yong (2004) foram comercializadas quase 1,6 bilhões de orquídeas (1,5 bilhões de mudas envasadas e 100 milhões hastes florais), que totalizaram mais de dois bilhões de dólares durante o ano de 2000" (Suzuki, 2014, p. 01).

2.3 MÉTODOS DE CULTIVO *IN VITRO* COMERCIAIS

A cultura de tecidos vegetais é uma técnica vantajosa, quando aplicada em variedades que necessitam ser propagadas em curto espaço de tempo e em grande escala. Compreende um conjunto de técnicas, nas quais um explante (célula, tecido ou órgão) é isolado e cultivado em condições assépticas com meio nutritivo artificial (Pasqual, 2001, p. 306). É uma importante ferramenta não só na genética e melhoramento de plantas como também pode auxiliar em inúmeras outras áreas da agricultura (Ramalho *et al.*, 1995, p. 47), produzindo plantas de alta qualidade fitossanitária, independentemente da época do ano (Guerra *et al.*, 1999, p. 30).

Em 1922, Lewis Knudson, da Universidade Cornell, relatou que o fungo não era necessário para a germinação se a semente fosse semeada em ágar contendo sais e açúcares apropriados. Seu meio Knudson C ainda é usado para germinar sementes de algumas espécies. Com a tecnologia de germinação não simbiótica, milhares de mudas puderam ser cultivadas até a maturidade a partir de uma única cápsula de semente. A tecnologia de germinação não simbiótica possibilitou a produção de grandes quantidades de plantas (Griesbach, 2002, p. 1221). Porém, a propagação *in vitro* é a única ferramenta atualmente disponível para a produção massal de híbridos de orquídeas, entretanto meios de cultivo comerciais apresentam custo elevado, assim, os meios de cultura alternativos permitem a produção de mudas com um custo reduzido, podendo ter a mesma eficácia ou até mesmo serem superiores aos comerciais (Dronk, 2004, p. 207).

2.4 ASSOCIAÇÃO DOS FITORMÔNIOS

Os hormônios e os reguladores de crescimento vegetal obtiveram enormes avanços no campo da fisiologia, principalmente na compreensão do controle da diferenciação celular, permitindo o surgimento do isolamento de células e tecidos *in vitro*, uma das principais ferramentas para o desenvolvimento agrícola (Torres *et al*, 1998, p. 735). Os reguladores de crescimento também são usados diretamente nas plantas no campo para obter muitos efeitos diferentes, como promover, desacelerar ou inibir o crescimento vegetativo, promover ou inibir a floração, aumentar a capacidade de frutificação, desbastar os frutos, aumentar o tamanho dos frutos, prevenir a queda dos frutos, controlar o amadurecimento e envelhecimento, promovendo o enraizamento e quebra de dormência de sementes e botões etc. (Mouco; Ono; Rodrigues, 2011, p. 1046).

Uma possível alternativa para contornar os problemas enfrentados na multiplicação *in vitro* de plantas consiste no desenvolvimento de novos produtos de origem vegetal. Existem relatos na literatura da influência de produtos de origem natural no crescimento e desenvolvimento de plantas. Por exemplo, Suzuki *et al*. (2007) observaram a capacidade de oligossacarídeos provenientes de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) em promover o crescimento de *Celosia argentea* L.

Essas alternativas de substituição de hormônios comerciais *podem ser* viáveis para projetos que buscam a reprodução e recolocação das orquídeas em extinção na natureza, ou para produção em larga escala, beneficiando pequenos comércios e floricultores. Partindo do pressuposto de que o sucesso do cultivo *in vitro* de espécies vegetais depende de fatores associados à indução e ao controle da morfogênese quanto à regeneração de brotos e raízes no processo de organogênese, torna-se imprescindível o controle da composição do meio de cultura.

Nesse escopo, diversas classes de reguladores vegetais têm sido empregadas nas técnicas de cultura de tecidos, com ênfase na suplementação do meio com auxinas e citocininas. Recentemente, também tem sido proposta a atuação decisiva das giberelinas em muitos aspectos do desenvolvimento das plantas (Souza *et al*, 2010, p. 55). “O ácido giberélico (GA3) é, entre as giberelinas, um dos mais usados para manipular o crescimento vegetal, por estimular a expansão e divisão celular” (Weiss & Ori, 2007, p. 329; Morganete & Lombardi, 2004, p. 78). Desta forma, supõe-se sua interação com os demais reguladores vegetais.

3. OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Com o objetivo de criar um meio de cultura de baixo custo e viável para projetos que buscam a reprodução e recolocação das orquídeas em extinção na natureza ou para produção em larga escala, foi desenvolvido no Colégio Estadual Jardim Porto Alegre o Meio de Cultura DIO, um meio alternativo, de preparo simples e custo acessíveis.

Buscando otimizar o cultivo *in vitro*, acelerar a germinação e o desenvolvimento de plântulas, flores, frutos e acelerar a produção de keikis (brotos que nascem de uma haste floral ou pseudobulbo que se desenvolvem de forma assexuada e se transformam em uma nova planta), o projeto propõe o uso de extratos vegetais ricos em fitormônios, com potencial para estimular o crescimento das orquídeas. Além disso, comparamos a eficácia do meio de cultura DIO em espécies distintas de orquídeas (*Cattleya walkeriana* e *Epidendrum cristatum*) e com o meio de cultivo *in vitro* comercial MS/2, em que foi utilizado também a orquídea *Cattleya walkeriana*. A proposta visa beneficiar pequenos produtores, floricultores e ações voltadas à reintrodução de espécies nativas, contribuindo com a variabilidade genética e o aumento da produção de plantas adultas, atendendo tanto ao mercado quanto à conservação ambiental.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Para reduzir o tempo de cultivo sem aumentar os custos, utilizamos 5 espécies de plantas para o preparo dos extratos vegetais do cultivo *in vitro* de *Cattleya walkeriana* e *Epidendrum cristatum*:

Kalanchoe blossfeldiana, *Kalanchoe delagoensis*, *Phyllanthus niruri*, *Habranthus robustus* e *Portulaca oleracea*. Cada planta apresenta 4 concentrações diferentes: 100, 150, 200 e 250 g/L, totalizando 21 tratamentos para cada gênero de orquídea, todos com 8 repetições cada.

Para auxiliar o desenvolvimento de brotos e substituir hormônios comerciais, utilizamos extratos vegetais de 10 plantas diferentes, testados nos pseudobulbos de *Dendrobium nobile*:

Kalanchoe daigremontiana, *Pilea microphylla*, *Vinca*, *Taraxacum officinale*, *Lantana camara*, *Bidens pilosa*, *Kalanchoe blossfeldiana*, *Kalanchoe delagoensis*, *Habranthus robustus* Herb ex e *Portulaca oleracea*. Cada planta foi testada nas concentrações de 100, 150, 200 e 250 g/L, totalizando 41 tratamentos, todos com 5 repetições cada.

4. METODOLOGIA

O estudo foi conduzido no laboratório de Ciências e Orquidário do Colégio Estadual Jardim Porto Alegre.

Inicialmente são fecundadas as orquídeas das espécies *Cattleya walkeriana* e *Epidendrum cristatum*, com o objetivo de obter cápsulas contendo sementes, as quais são deixadas na orquídea por um período de 9 a 12 meses para que amadurecessem, conforme indicado no fluxograma 1.

Fluxograma 1: Fecundação das cápsulas e lavagem dos frascos.



Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

Um total de 346 frascos e tampas metálicas foram devidamente higienizados para a realização do experimento, e filtros de café do tamanho apropriado foram recortados para serem inseridos nas tampas. Cada frasco foi identificado com etiquetas contendo informações como data, pH utilizado, extrato, tratamento e repetição.

O estudo incluiu 21 tratamentos para cada espécie de orquídea, utilizamos todos os extratos vegetais nas concentrações de 100, 150, 200 e 250 g/L e o cultivo do meio MS/2, que foi realizado também com a orquídea *Cattleya walkeriana*, somando mais um tratamento, todos eles com 8 repetições cada, de acordo com a tabela 1.

Tabela 1: Tratamentos e suas respectivas concentrações para o cultivo *in vitro* do meio DIO de *Cattleya walkeriana* e *Epidendrum cristatum*.

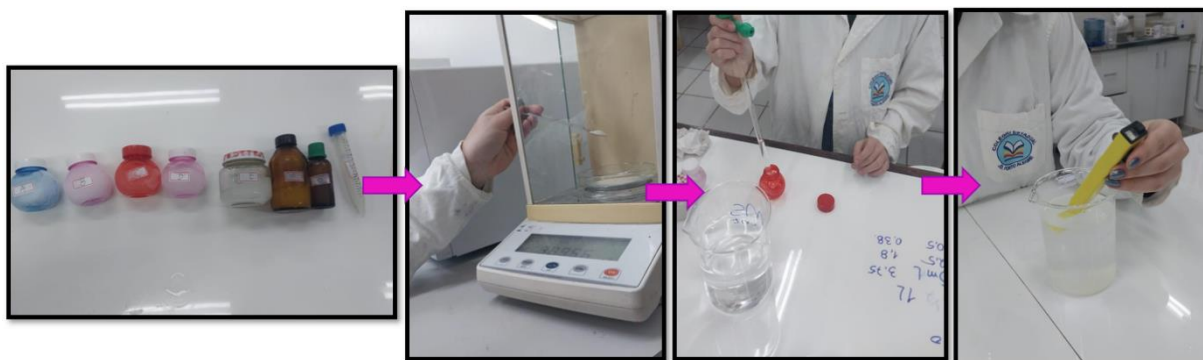
EXTRATOS	TRATAMENTO	CONCENTRAÇÃO
Meio de cultura sem extratos	T1	0g/L
Jacaré	T2	100g/L
Jacaré	T3	150g/L
Jacaré	T4	200g/L
Jacaré	T5	250g/L
Flor-da-fortuna	T6	100g/L
Flor-da-fortuna	T7	150g/L
Flor-da-fortuna	T8	200g/L
Flor-da-fortuna	T9	250g/L
Bulbo de lírio dos ventos	T10	100g/L
Bulbo de lírio dos ventos	T11	150g/L
Bulbo de lírio dos ventos	T12	200g/L
Bulbo de lírio dos ventos	T13	250g/L
Quebra-pedra	T14	100g/L
Quebra-pedra	T15	150g/L
Quebra-pedra	T16	200g/L
Quebra-pedra	T17	250g/L
Beldroega	T18	100g/L
Beldroega	T19	150g/L
Beldroega	T20	200g/L
Beldroega	T21	250g/L

Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

O meio nutritivo MS/2 foi elaborado conforme as dosagens indicadas, as vitaminas foram transferidas com auxílio de uma pipeta para um béquer contendo água autoclavada. Após a adição das vitaminas, o meio nutritivo foi aquecido até que atingisse 50 graus Celsius, temperatura adequada para incorporar o açúcar e o ágar. Após a mistura chegar em temperatura ambiente é ajustado o valor do pH com ácido acético e bicarbonato de sódio, medindo-se com um pHmetro digital até alcançar o valor de 5,6. Em seguida são despejados 50 mL de meio de cultura em frascos com capacidade de 500 mL e esses são autoclavados a 127°C e aproximadamente 1,4

atm por 20 minutos. Após o término do ciclo, vedam-se os frascos e é aguardada a gelificação do meio para o processo de semeadura (fluxograma 2).

Fluxograma 2: Preparo do meio MS/2.



Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

Para o preparo do meio de cultura alternativo DIO fez-se o uso de banana nanica, carvão ativado, adubo fermentado, açúcar e de ágar, com seu pH ajustado a 5,6.

Iniciamos o preparo do meio alternativo pesando e separando todas as respectivas concentrações de plantas utilizadas para o preparo dos extratos, em seguida elas são processadas separadamente para 1L de água e coadas, conforme imagens indicadas no fluxograma 3.

Fluxograma 3: Preparo dos extratos para o cultivo *in vitro* do meio DIO.

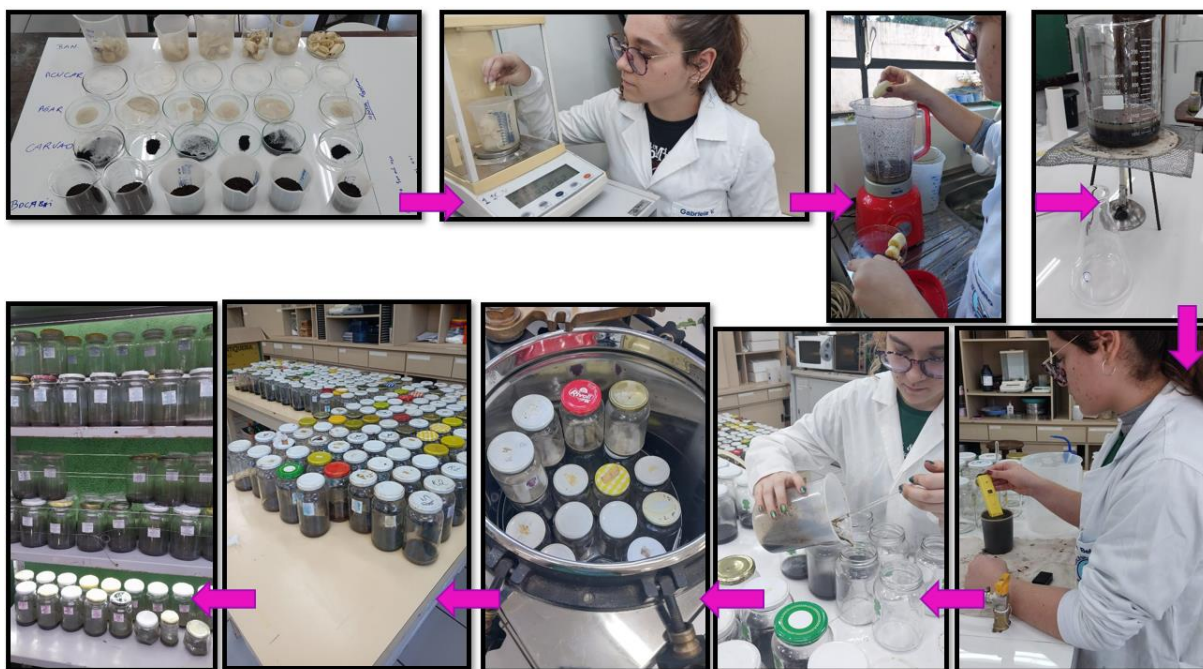


Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

Com os extratos prontos, tendo em vista que os compostos do meio DIO foram pesados e em seguida misturados, reservando-se apenas o ágar. É acrescentado um tratamento de extrato vegetal na mistura até completar 1L. Posteriormente a mistura é despejada em um liquidificador, onde cada tratamento é triturado separadamente.

Para a preparação do meio, a mistura é despejada em um béquer e mexesse com o auxílio de uma vareta de vidro sobre as chamas de um bico de Bunsen até a mistura atingir 50 graus Celsius, nesse momento é adicionado e incorporado o ágar. Posteriormente, a mistura é retirada do fogo e aguardamos ela atingir a temperatura ambiente para ser realizada a medição do PH com ácido acético e bicarbonato de sódio, medindo-se com um pHmetro digital até alcançar o valor estabelecido. Em seguida, é despejado 50 mL de meio de cultura nos respectivos frascos com capacidade de 500 mL e esses são autoclavados a 127°C e aproximadamente 1,4 atm por 20 minutos. Após esse processo, os frascos são vedados totalmente e é aguardada a gelificação dos meios para a inserção das sementes, processos esses descritos no fluxograma 4.

Fluxograma 4: Preparo do meio DIO.



Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

Com o meio já solidificado, as cápsulas de orquídea são esterilizadas em solução de hipoclorito de sódio a 12% por 10 minutos e após isso é realizada a tríplice lavagem com água autoclavada, com o objetivo de remover todo o excesso de hipoclorito presente.

Feita a abertura das cápsulas, são inseridas 1 pipetada de sementes em cada frasco dentro de uma cuba de vidro equipada com uma lâmpada incandescente e duas

aberturas circulares para garantir ambiente com menor risco de contaminação. Ainda na cuba, os frascos são vedados com uma tampa de metal, as tampas são envolvidas com plástico filme para reduzir as possibilidades de uma eventual contaminação, de acordo com fluxograma 5.

Fluxograma 5: Semeadura.



Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

Os recipientes de vidro, após a semeadura, são mantidos na sala de cultivo do Colégio Estadual Jardim Porto Alegre, expostos à luz indireta do sol e, levando em conta o crescimento das sementes no meio alternativo incorporado com os extratos e eles em comparação ao meio MS/2, são realizadas avaliações uma vez por semana e essas são registradas no diário de bordo do projeto.

Posteriormente, iniciou-se o processo de produção de keikis a partir dos pseudobulbos de *Dendrobium nobile*.

Os pseudobulbos são colhidos e cortados em segmentos de quatro entrenós. Aplica-se canela em pó nas extremidades cortadas como medida antifúngica e os segmentos são deixados por dois dias sobre bandejas de isopor registradas com o respectivo tratamento e areia fina. Enquanto isso, é realizado o preparo dos extratos, iniciamos pesando e separando todas as respectivas concentrações de plantas

utilizadas, e, em seguida batemos todas elas separadamente para 1L de água e coamos, como indicado nos fluxogramas 6 e 7.

Fluxograma 6: Preparo dos pseudobulbos.



Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

Fluxograma 7: Preparo dos extratos para produção de keikis.



Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

Foram aplicadas 5 pipetadas dos extratos vegetais coados sobre cada pseudobulbo três vezes por semana. Cada planta foi testada nas concentrações de 100, 150, 200 e 250 g/L, totalizando 41 tratamentos com 5 repetições cada (tabela 2). Os pseudobulbos foram mantidos na sala de cultivo sob luz indireta do sol e foram realizadas avaliações semanais para acompanhar o desenvolvimento dos keikis em cada tratamento de extrato. As avaliações semanais são registradas no diário de bordo do projeto.

Tabela 2: Tratamentos e suas respectivas concentrações para a produção de keikis nos pseudobulbos de *Dendrobium nobile*.

EXTRATOS	TRATAMENTO	CONCENTRAÇÃO
Água filtrada	T1	0g/L
Jacaré	T2	100g/L
Jacaré	T3	150g/L
Jacaré	T4	200g/L
Jacaré	T5	250g/L
Vinca	T6	100g/L
Vinca	T7	150g/L
Vinca	T8	200g/L
Vinca	T9	250g/L
Aranto	T10	100g/L
Aranto	T11	150g/L
Aranto	T12	200g/L
Aranto	T13	250g/L
Lantana	T14	100g/L
Lantana	T15	150g/L
Lantana	T16	200g/L
Lantana	T17	250g/L
Flor-da-fortuna	T18	100g/L
Flor-da-fortuna	T19	150g/L
Flor-da-fortuna	T20	200g/L
Flor-da-fortuna	T21	250g/L
Bulbo de lírio dos ventos	T22	100g/L
Bulbo de lírio dos ventos	T23	150g/L
Bulbo de lírio dos ventos	T24	200g/L
Bulbo de lírio dos ventos	T25	250g/L
Beldroega	T26	100g/L
Beldroega	T27	150g/L
Beldroega	T28	200g/L
Beldroega	T29	250g/L
Brilhantina	T30	100g/L

Brilhantina	T31	150g/L
Brilhantina	T32	200g/L
Brilhantina	T33	250g/L
Picão-preto	T34	100g/L
Picão-preto	T35	150g/L
Picão-preto	T36	200g/L
Picão-preto	T37	250g/L
Dente-de-leão	T38	100g/L
Dente-de-leão	T39	150g/L
Dente-de-leão	T40	200g/L
Dente-de-leão	T41	250g/L

Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

5. RESULTADOS

- Resultados e discussões para o cultivo *in vitro*:

Os resultados preliminares do presente estudo indicam que a adição do extrato vegetal de *Portulaca oleracea* na concentração de 150 g/L (T19) ao meio DIO favoreceu a formação de calos nas sementes de ambas as espécies de orquídeas cultivadas *in vitro*, como apresentado nas figuras 1 e 2. Em contraste, os controles (meio DIO sem adição de extratos e meio MS/2) não apresentaram sinais de germinação (figura 3 e 4).

Figura 1: Germinação do T19 R2 de *Epidendrum cristatum*.



Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

Figura 2: Germinação do T19 R6 de *Cattleya walkeriana*.



Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

Figura 3: Tratamento contendo o meio MS/2.



Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

Figura 4: Tratamento do meio DIO sem adição de extratos.



Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

Esses achados sugerem que compostos presentes nos extratos vegetais podem atuar como indutores de germinação, possivelmente por meio da modulação de hormônios vegetais ou outros metabólitos bioativos. Nesse sentido, a utilização de meios de cultura alternativos, como o DIO enriquecido com extratos vegetais, está alinhada com a perspectiva apresentada por Dronk (2004, p. 207), que destaca que “os meios de cultura alternativos permitem a produção de mudas com um custo reduzido, podendo ter a mesma eficácia ou até mesmo serem superiores aos comerciais.” Isso reforça a importância de explorar formulações alternativas que, além

de reduzirem custos, possam apresentar benefícios biológicos relevantes para o cultivo *in vitro*.

No estudo de Soares et al. (2009), observou-se que a concentração de sais do meio Knudson C influenciou o crescimento *in vitro* de plântulas de orquídeas. Para a espécie *Cattleya loddigesii*, a maior concentração de sais (200%) promoveu maior crescimento, enquanto a multiplicação foi mais eficiente no meio com 100% de sais. Além disso, a adição de ácido giberélico (GA₃) a 2,5 mg/L aumentou o número de folhas, indicando que hormônios vegetais desempenham papel crucial na indução de crescimento e desenvolvimento das plântulas.

Ao comparar os dois estudos, observa-se que ambos destacam a importância de componentes do meio de cultura na indução de processos iniciais de desenvolvimento das orquídeas. Enquanto o estudo de Soares et al. (2009) enfatiza o papel dos sais minerais e do ácido giberélico no crescimento das plântulas, o presente estudo sugere que extratos vegetais podem atuar como indutores naturais de germinação, substituindo ou complementando o uso de hormônios comerciais.

Essas evidências indicam que a modulação do meio de cultura, seja por meio da alteração das concentrações de sais minerais, adição de hormônios sintéticos ou incorporação de extratos vegetais, é fundamental para otimizar o cultivo *in vitro* de orquídeas. A utilização de extratos vegetais pode representar uma alternativa sustentável e eficaz, alinhando-se às tendências atuais de busca por métodos mais naturais e ecológicos na propagação de plantas.

- Resultados e discussões para produção de keikis:

A aplicação dos extratos vegetais nos pseudobulbos foi iniciada no dia 19/03/2025. Após seis meses de desenvolvimento dos keikis, procedeu-se à análise estatística das variáveis floração, comprimento foliar, comprimento do keiki, comprimento radicular, número de keikis e oxidação dos pseudobulbos, utilizando-se o programa SISVAR e o teste de média Scott-Knott, a 0,05% de insignificância. A totalidade dos tratamentos foi comparada ao desempenho do controle (T1).

A análise de variância da variável floração revelou ausência de efeito significativo dos tratamentos ($Pr > Fc = 0,5120$), indicando que não houve diferenças estatísticas entre as médias avaliadas. A média geral foi bastante baixa (0,0146), refletindo a quase inexistência de floração no experimento.

Os resultados do teste de comparação de médias confirmaram essa tendência, uma vez que todos os tratamentos foram agrupados em uma única letra (“A”), demonstrando comportamento estatisticamente semelhante. Embora os tratamentos T5 (0,2000) e T19 (0,4000) tenham apresentado valores ligeiramente superiores aos demais, essas variações não foram suficientes para estabelecer diferenças estatisticamente significativas. Acredita-se que o resultado obtido pode estar relacionado à raridade de floração dentro das condições testadas.

De modo geral, pode-se afirmar que os tratamentos aplicados não influenciaram a floração das plantas, sendo os valores observados insuficientes para caracterizar efeito diferencial.

Em contraste com os resultados obtidos no presente estudo — em que praticamente todos os tratamentos resultaram em ausência de floração ou valores extremamente baixos que não diferiram estatisticamente — há trabalhos em que manipulações específicas conseguem induzir ou acelerar a floração, mesmo sob condições adversas, demonstrando que em plantas ornamentais, o manejo certo pode provocar respostas significativas.

Um exemplo é o estudo *“Effects of nitrogen fertilization on development, flowering, and mineral nutrition of potted Costus productus Gleason ex Maas”*. Nesse experimento realizado em São Paulo, Brasil, diferentes doses de nitrogênio foram aplicadas a *Costus productus* cultivado em vasos, e verificou-se efeito positivo sobre o número de inflorescências, ou seja, a fertilização nitrogenada promoveu desenvolvimento vegetativo e floração.

A análise de variância para a variável tamanho da folha mostrou efeito significativo dos tratamentos ($Pr > F_c = 0,0000$), evidenciando diferenças estatísticas entre as médias. A média geral foi de 0,812 cm, mas os valores variaram amplamente entre os tratamentos, desde 0,00 até 2,60 cm.

O teste de comparação de médias (Tabela 4) revelou a formação de dois grupos distintos: o grupo “A”, com valores mais baixos, e o grupo “B”, com valores significativamente superiores. Os tratamentos T40 (2,60 cm), T20 e T28 (2,30 cm), seguidos por T13 (1,86 cm) e T22 (1,56 cm), destacaram-se por apresentar folhas maiores, compondo o grupo de maior desempenho. Já a maioria dos tratamentos concentrou-se no grupo “A”, com médias muito reduzidas ou nulas.

Tabela 3: Análise estatística da variável tamanho da folha.

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
T4 (Jacaré 200g/L)	0,00	A
T35 (Picão-preto 150g/L)	0,00	A
T10 (Aranto 100g/L)	0,00	A
T6 (Vinca 100g/L)	0,04	A
T15 (Lantana 150g/L)	0,10	A
T41 (D. Leão 250g/L)	0,10	A
T1 (Água filtrada)	0,10	A
T2 (Jacaré 100g/L)	0,16	A
T30 (Brilhantina 100g/L)	0,20	A
T17 (Lantana 250g/L)	0,20	A
T32 (Brilhantina 200g/L)	0,30	A
T5 (Jacaré 250g/L)	0,34	A
T36 (Picão-preto 200g/L)	0,40	A
T21 (F. Fortuna 250g/L)	0,40	A
T11 (Aranto 150g/L)	0,48	A
T23 (B. Lírio 150g/L)	0,48	A
T37 (Picão-preto 250g/L)	0,50	A
T38 (D. Leão 100g/L)	0,50	A
T9 (Vinca 250g/L)	0,52	A
T29 (Beldroega 250g/L)	0,62	A
T25 (B. Lírio 250g/L)	0,62	A
T34 (Picão-preto 100g/L)	0,66	A
T26 (Beldroega 100g/L)	0,84	A
T12 (Aranto 200g/L)	0,84	A
T8 (Vinca 200g/L)	0,86	A
T31 (Brilhantina 150g/L)	0,88	A
T18 (F. Fortuna 100g/L)	1,00	B
T27 (Beldroega 150g/L)	1,04	B
T16 (Lantana 200g/L)	1,04	B
T3 (Jacaré 150g/L)	1,16	B
T7 (Vinca 150g/L)	1,16	B
T19 (F. Fortuna 150g/L)	1,28	B

T39 (D. Leão 150g/L)	1,40	B
T14 (Lantana 100g/L)	1,46	B
T33 (Brilhantina 250g/L)	1,50	B
T24 (B. Lírio 200g/L)	1,50	B
T22 (B. Lírio 100g/L)	1,56	B
T13 (Aranto 250g/L)	1,86	B
T20 (F. Fortuna 200g/L)	2,30	B
T28 (Beldroega 200g/L)	2,30	B
T40 (D. Leão 200g/L)	2,60	B

Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

Resultados semelhantes foram reportados por Lemos *et al.* (2019) em pesquisa com orquídeas do gênero *Cattleya*, na qual diferentes concentrações de extrato vegetal influenciaram significativamente o crescimento foliar *in vitro*. Os autores destacaram que a presença de compostos bioativos, especialmente fitormônios naturais como auxinas, citocininas e giberelinas, presentes nos extratos utilizados, favoreceu o alongamento e a expansão foliar. Essa tendência está em consonância com os resultados do presente estudo, nos quais determinados tratamentos (como T40, T20 e T28) proporcionaram maior incremento no tamanho foliar, em comparação aos demais.

Assim, os dados sugerem que, embora exista grande variabilidade, a aplicação de determinados tratamentos pode favorecer o desenvolvimento vegetativo, em especial o crescimento foliar. Esse efeito pode estar relacionado à ação conjunta de nutrientes e fitormônios presentes nos extratos vegetais, os quais desempenham papel fundamental na divisão e expansão celular.

A análise de variância mostrou efeito significativo dos tratamentos sobre o tamanho do keiki ($Pr > Fc = 0,0086$), com média geral de 2,72 cm e variação de 0,00 a 6,48 cm.

O teste de comparação de médias (Tabela 5) evidenciou dois grupos distintos. Destacam-se os tratamentos T20 (*Portulaca oleracea* 200 g/L) e T19 (*Portulaca oleracea* 150 g/L), que apresentaram os maiores tamanhos médios de keikis, com 6,48 cm e 5,10 cm, respectivamente. Esses resultados indicam que ambos os extratos exercem efeito significativo na promoção do crescimento vegetativo.

Tabela 4: Análise estatística da variável tamanho do keiki.

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
T4 (Jacaré 200g/L)	0,00	A
T10 (Aranto 100g/L)	0,00	A
T36 (Picão-preto 200g/L)	0,24	A
T1 (Água filtrada)	0,46	A
T17 (Lantana 250g/L)	0,54	A
T2 (Jacaré 100g/L)	0,86	A
T35 (Picão-preto 150g/L)	1,04	A
T6 (Vinca 100g/L)	1,10	A
T21 (F. Fortuna 250g/L)	1,28	A
T38 (D. Leão 100g/L)	1,30	A
T25 (B. Lírio 250g/L)	1,38	A
T41 (D. Leão 250g/L)	1,50	A
T15 (Lantana 150g/L)	1,84	A
T30 (Brilhantina 100g/L)	1,86	A
T32 (Brilhantina 200g/L)	1,88	A
T11 (Aranto 150g/L)	1,92	A
T9 (Vinca 250g/L)	2,10	A
T8 (Vinca 200g/L)	2,40	A
T23 (B. Lírio 150g/L)	2,70	B
T7 (Vinca 150g/L)	2,88	B
T31 (Brilhantina 150g/L)	2,90	B
T5 (Jacaré 250g/L)	3,00	B
T34 (Picão-preto 100g/L)	3,10	B
T27 (Beldroega 150g/L)	3,14	B
T37 (Picão-preto 250g/L)	3,20	B
T12 (Aranto 200g/L)	3,20	B
T16 (Lantana 200g/L)	3,24	B
T29 (Beldroega 250g/L)	3,38	B
T40 (D. Leão 200g/L)	3,42	B
T18 (F. Fortuna 100g/L)	3,76	B
T3 (Jacaré 150g/L)	3,96	B

T39 (D. Leão 150g/L)	4,10	B
T26 (Beldroega 100g/L)	4,12	B
T13 (Aranto 250g/L)	4,26	B
T22 (B. Lírio 100g/L)	4,30	B
T33 (Brilhantina 250g/L)	4,62	B
T24 (B. Lírio 200g/L)	4,86	B
T14 (Lantana 100g/L)	5,04	B
T28 (Beldroega 200g/L)	5,06	B
T19 (F. Fortuna 150g/L)	5,10	B
T20 (F. Fortuna 200g/L)	6,48	B

Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

O efeito positivo dos extratos pode ser explicado pela presença de fitormônios naturais e compostos bioativos que estimulam a divisão e alongação celular. Estudos prévios demonstram que extratos vegetais podem funcionar como bioestimulantes, promovendo crescimento radicular e vegetativo, além de aumentar a sobrevivência de brotos e plântulas (Chrysargyris *et al.*, 2024, p. 20; Favero *et al.*, 2022, p. 3).

Adicionalmente, estudos indicam que *Portulaca oleracea* possui propriedades bioestimulantes que podem beneficiar o crescimento de outras plantas. Por exemplo, Mohamed *et al.* (2024) observaram que a aplicação de compostos bioativos derivados de *Portulaca oleracea* promoveu o desenvolvimento de plantas sob estresse salino, sugerindo que seus extratos podem atuar como bioestimulantes, melhorando o crescimento vegetativo e a tolerância a estresses ambientais.

A análise de variância revelou efeito significativo dos tratamentos ($Pr > Fc = 0,0120$) sobre o tamanho da raiz, com uma média geral de 1,075 cm e variação entre 0,00 e 2,32 cm.

O teste de comparação de médias (Tabela 6) evidenciou a formação de dois grupos distintos: o grupo “A”, com valores inferiores, e o grupo “B”, com valores superiores, destacando-se os tratamentos T22 (2,32 cm), T20 (2,28 cm), T39 (2,06 cm) e T26 (1,84 cm), que apresentaram os maiores tamanhos de raiz, diferindo estatisticamente da maioria dos demais.

Tabela 5: Análise estatística da variável tamanho da raiz.

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
T4 (Jacaré 200g/L)	0,00	A
T10 (Aranto 100g/L)	0,00	A
T36 (Picão-preto 200g/L)	0,02	A
T38 (D. Leão 100g/L)	0,41	A
T17 (Lantana 250g/L)	0,42	A
T1 (Água filtrada)	0,44	A
T8 (Vinca 200g/L)	0,46	A
T2 (Jacaré 100g/L)	0,48	A
T35 (Picão-preto 150g/L)	0,48	A
T5 (Jacaré 250g/L)	0,50	A
T6 (Vinca 100g/L)	0,52	A
T34 (Picão-preto 100g/L)	0,64	A
T25 (B. Lírio 250g/L)	0,66	A
T41 (D. Leão 250g/L)	0,68	A
T21 (F. Fortuna 250g/L)	0,74	A
T32 (Brilhantina 200g/L)	0,76	A
T23 (B. Lírio 150g/L)	0,76	A
T37 (Picão-preto 250g/L)	0,80	A
T27 (Beldroega 150g/L)	0,90	A
T9 (Vinca 250g/L)	0,90	A
T15 (Lantana 150g/L)	1,00	A
T16 (Lantana 200g/L)	1,06	A
T12 (Aranto 200g/L)	1,14	B
T11 (Aranto 150g/L)	1,28	B
T31 (Brilhantina 150g/L)	1,32	B
T7 (Vinca 150g/L)	1,36	B
T30 (Brilhantina 100g/L)	1,42	B
T13 (Aranto 250g/L)	1,46	B
T33 (Brilhantina 250g/L)	1,54	B
T19 (F. Fortuna 150g/L)	1,54	B
T14 (Lantana 100g/L)	1,56	B
T24 (B. Lírio 200g/L)	1,58	B

T3 (Jacaré 150g/L)	1,64	B
T40 (D. Leão 200g/L)	1,72	B
T28 (Beldroega 200g/L)	1,74	B
T18 (F. Fortuna 100g/L)	1,76	B
T26 (Beldroega 100g/L)	1,84	B
T29 (Beldroega 250g/L)	1,88	B
T39 (D. Leão 150g/L)	2,06	B
T20 (F. Fortuna 200g/L)	2,28	B
T22 (B. Lírio 100g/L)	2,32	B

Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

Mustafa et al. (2023) conduziram um estudo para avaliar o efeito de extratos vegetais no enraizamento de estacas de *Callistemon viminalis*. Os resultados mostraram que o extrato de alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*) a 6 g/L proporcionou a maior taxa de enraizamento (86,66%), comparável ao tratamento com ácido indolbutírico (IBA) a 3000 ppm (66,66%). Outros extratos, como canela (*Cinnamomum verum*) e feno-grego (*Trigonella foenum-graecum*), apresentaram taxas de enraizamento significativamente mais baixas.

Além disso, o estudo observou que o extrato de alcaçuz a 6 g/L também aumentou o número de raízes por estaca (18,91 raízes), a sobrevivência das estacas após o transplante (66,66%) e o comprimento das raízes (15,54 cm), superando o controle e outros tratamentos.

Os resultados obtidos neste estudo, aliados aos dados de Mustafa et al. (2023), sugerem que os extratos vegetais podem ser eficazes na promoção do crescimento radicular de orquídeas. A presença de fitormônios naturais nos extratos pode atuar como reguladores de crescimento, estimulando a divisão e alongamento celular nas raízes. No entanto, é importante considerar a variabilidade observada nos resultados, que pode estar relacionada à composição específica dos extratos, à concentração dos fitormônios e às condições ambientais durante o cultivo.

Embora o estudo de Mustafa et al. (2023) tenha focado no enraizamento de *Callistemon viminalis*, os princípios observados podem ser aplicáveis a outras espécies de plantas, incluindo orquídeas. A variação na eficácia dos extratos vegetais pode ser atribuída às diferenças na composição química dos extratos, que influenciam sua atividade biológica.

A análise de variância da variável número de keikis evidenciou efeito significativo dos tratamentos ($Pr > F_c = 0,0056$), com média geral de 1,06 keikis por planta e variação entre 0,00 e 2,20. O coeficiente de variação ($CV = 83,08\%$) indica alta heterogeneidade, mas ainda permite identificar diferenças consistentes entre os tratamentos.

O teste de comparação de médias (Tabela 7) revelou dois grupos distintos: o grupo “A”, com menor número de keikis, e o grupo “B”, que incluiu os tratamentos com maiores médias. Destacam-se os tratamentos T20 (*Portulaca oleracea* 200 g/L) e T28 (*Kalanchoe blossfeldiana* 200 g/L), ambos apresentando 2,20 keikis em média, indicando efeito positivo significativo na multiplicação vegetativa das plantas.

Tabela 6: Análise estatística da variável número de keikis.

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
T4 (Jacaré 200g/L)	0,00	A
T10 (Aranto 100g/L)	0,00	A
T36 (Picão-preto 200g/L)	0,40	A
T1 (Água filtrada)	0,40	A
T17 (Lantana 250g/L)	0,40	A
T19 (F. Fortuna 150g/L)	0,60	A
T30 (Brilhantina 100g/L)	0,60	A
T31 (Brilhantina 150g/L)	0,60	A
T2 (Jacaré 100g/L)	0,60	A
T41 (D. Leão 250g/L)	0,60	A
T8 (Vinca 200g/L)	0,80	A
T6 (Vinca 100g/L)	0,80	A
T38 (D. Leão 100g/L)	0,80	A
T16 (Lantana 200g/L)	0,80	A
T15 (Lantana 150g/L)	0,80	A
T27 (Beldroega 150g/L)	1,00	A
T7 (Vinca 150g/L)	1,00	A
T37 (Picão-preto 250g/L)	1,00	A
T5 (Jacaré 250g/L)	1,00	A
T18 (F. Fortuna 100g/L)	1,00	A

T23 (B. Lírio 150g/L)	1,00	A
T9 (Vinca 250g/L)	1,00	A
T12 (Aranto 200g/L)	1,00	A
T21 (F. Fortuna 250g/L)	1,00	A
T14 (Lantana 100g/L)	1,00	A
T34 (Picão-preto 100g/L)	1,20	A
T11 (Aranto 150g/L)	1,20	A
T39 (D. Leão 150g/L)	1,20	A
T32 (Brilhantina 200g/L)	1,20	A
T3 (Jacaré 150g/L)	1,40	B
T25 (B. Lírio 250g/L)	1,40	B
T35 (Picão-preto 150g/L)	1,40	B
T29 (Beldroega 250g/L)	1,60	B
T26 (Beldroega 100g/L)	1,60	B
T22 (B. Lírio 100g/L)	1,60	B
T33 (Brilhantina 250g/L)	1,60	B
T40 (D. Leão 200g/L)	1,60	B
T24 (B. Lírio 200g/L)	2,00	B
T13 (Aranto 250g/L)	2,00	B
T20 (F. Fortuna 200g/L)	2,20	B
T28 (Beldroega 200g/L)	2,20	B

Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

Os resultados observados em T20 e T28 podem ser explicados pelo potencial bioativo desses extratos:

1. *Portulaca oleracea*: Conforme Chrysargyris *et al.* (2024), extratos dessa planta contêm compostos bioativos e fitormônios naturais que estimulam divisão e alongamento celular, promovendo maior desenvolvimento vegetativo em sistemas hidropônicos. No presente estudo, o extrato a 200 g/L (T20) favoreceu a formação de mais keikis, evidenciando seu efeito estimulante na multiplicação clonal.
2. *Kalanchoe blossfeldiana*: Favero *et al.* (2022) demonstraram que esta planta, especialmente quando transformada geneticamente ou cultivada sob condições controladas, apresenta aumento do sistema radicular e da biomassa,

fatores que podem favorecer a produção de brotos laterais. No estudo atual, o extrato a 200 g/L (T28) também se destacou, promovendo maior número de keikis, sugerindo que compostos bioativos presentes na planta estimulam a multiplicação vegetativa.

A análise de variância evidenciou efeito significativo dos tratamentos sobre a oxidação dos pseudobulbos ($Pr > Fc = 0,0268$), com média geral de 0,2048 e variação entre 0,00 e 1,00.

O teste de comparação de médias (Tabela 8) mostrou que a maioria dos tratamentos apresentou baixa oxidação (grupo “A”), enquanto alguns tratamentos (como T1 e T8) apresentaram valores mais elevados, indicando maior estresse oxidativo nos pseudobulbos.

Tabela 7: Análise estatística da oxidação dos pseudobulbos.

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
T26 (Beldroega 100g/L)	0,00	A
T27 (Beldroega 150g/L)	0,00	A
T28 (Beldroega 200g/L)	0,00	A
T22 (B. Lírio 100g/L)	0,00	A
T23 (B. Lírio 150g/L)	0,00	A
T24 (B. Lírio 200g/L)	0,00	A
T31 (Brilhantina 150g/L)	0,00	A
T39 (D. Leão 150g/L)	0,00	A
T4 (Jacaré 200g/L)	0,00	A
T40 (D. Leão 200g/L)	0,00	A
T32 (Brilhantina 200g/L)	0,00	A
T34 (Picão-preto 100g/L)	0,00	A
T35 (Picão-preto 150g/L)	0,00	A
T21 (F. Fortuna 250g/L)	0,00	A
T14 (Lantana 100g/L)	0,00	A
T18 (F. Fortuna 100g/L)	0,00	A
T15 (Lantana 150g/L)	0,00	A
T37 (Picão-preto 250g/L)	0,20	A
T29 (Beldroega 250g/L)	0,20	A

T33 (Brilhantina 250g/L)	0,20	A
T38 (D. Leão 100g/L)	0,20	A
T7 (Vinca 150g/L)	0,20	A
T6 (Vinca 100g/L)	0,20	A
T20 (F. Fortuna 200g/L)	0,20	A
T9 (Vinca 250g/L)	0,20	A
T5 (Jacaré 250g/L)	0,20	A
T17 (Lantana 250g/L)	0,20	A
T41 (D. Leão 250g/L)	0,40	B
T10 (Aranto 100g/L)	0,40	B
T11 (Aranto 150g/L)	0,40	B
T16 (Lantana 200g/L)	0,40	B
T3 (Jacaré 150g/L)	0,40	B
T25 (B. Lírio 250g/L)	0,40	B
T2 (Jacaré 100g/L)	0,40	B
T19 (F. Fortuna 150g/L)	0,40	B
T12 (Aranto 200g/L)	0,40	B
T36 (Picão-preto 200g/L)	0,40	B
T13 (Aranto 250g/L)	0,40	B
T30 (Brilhantina 100g/L)	0,40	B
T8 (Vinca 200g/L)	0,60	B
T1 (Água filtrada)	1,00	B

Fonte: Beatriz Maria F. Santos.

O fenômeno de oxidação nos pseudobulbos pode ser associado ao estresse oxidativo induzido por condições ambientais, incluindo regime de irrigação inadequado. Segundo Barbosa (2023), plantas submetidas a estresse hídrico ou excesso de água tendem a produzir espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem danificar membranas celulares, proteínas e pigmentos, resultando em sintomas visíveis de oxidação.

Além disso, Barbosa (2014) enfatiza que a capacidade antioxidante natural das plantas é determinante para a mitigação dos danos provocados pelas EROs. Quando essa capacidade é insuficiente ou os estímulos oxidativos são muito intensos, ocorre

oxidação de tecidos vegetativos, como observado em alguns tratamentos deste estudo.

Os tratamentos T26 (*Portulaca oleracea* 100 g/L) e T27 (*Portulaca oleracea* 150 g/L) não apresentaram níveis de oxidação (0,0), sugerindo que os extratos vegetais podem exercer efeito antioxidante, reduzindo significativamente o estresse oxidativo nos pseudobulbos. Este efeito pode estar relacionado à presença de fitormônios e compostos bioativos nos extratos, que não apenas estimulam o crescimento, mas também fortalecem os mecanismos antioxidantes naturais da planta.

6. CONCLUSÃO

- Conclusão para o cultivo *in vitro*:

O uso do cultivo *in vitro* para produção de plantas possibilita um ambiente controlado e seguro, promovendo a reprodução eficaz das espécies. Contudo, os altos custos e a lentidão no processo de desenvolvimento da planta relacionados à utilização de hormônios comerciais que podem aumentar o custo do cultivo e meios de cultura convencionais, como o meio Knudson C permanecem como uma das principais barreiras à popularização do cultivo *in vitro*, sobretudo entre pequenos produtores, floricultores e ações de combate ao extrativismo predatório.

Espera-se que os resultados obtidos ao final da pesquisa em relação a comparação do meio alternativo DIO com o meio comercial MS/2 demonstrem que o método alternativo de desenvolvimento *in vitro* de orquídeas (meio DIO) pode ter resultados semelhantes ou até superiores ao meio comercial MS/2. Apresentando robustez, qualidade e crescimento das plântulas quando envolvidos com extratos vegetais com a presença de fitormônios e com um custo acessível a população.

- Conclusão para produção de keikis:

A avaliação do uso de extratos vegetais na produção de keikis de *Dendrobium nobile* demonstrou que diferentes tratamentos influenciaram significativamente o desenvolvimento de estruturas vegetativas, especialmente no tamanho das folhas, no crescimento dos keikis, no desenvolvimento de raízes e no número de keikis.

Embora a variável floração não tenha apresentado diferenças significativas entre os tratamentos, indicando que os extratos testados não estimularam a indução floral, houve efeitos positivos expressivos sobre características diretamente relacionadas à propagação clonal. O tamanho das folhas, o tamanho dos keikis e o número de keikis apresentaram diferenças estatísticas relevantes ($p < 0,05$), confirmando a eficácia de determinados extratos vegetais como indutores do crescimento.

Adicionalmente, verificou-se que a oxidação dos pseudobulbos variou entre os tratamentos, sugerindo que alguns extratos podem reduzir o estresse oxidativo, favorecendo a sobrevivência e o vigor das plantas propagadas pela formação de keikis. Esses resultados reforçam o potencial de uso de extratos naturais como

substitutos sustentáveis de reguladores de crescimento comerciais, reduzindo custos e oferecendo uma alternativa viável para pequenos produtores, floricultores e para projetos que visam a recolocação de determinadas espécies de orquídeas em ameaça de extinção na natureza.

Portanto concluo deste estudo que os extratos vegetais testados possuem potencial biotecnológico para otimizar a propagação de orquídeas por meio da indução de keikis, contribuindo tanto para o aumento da produtividade quanto para estratégias de conservação e reintrodução dessas espécies.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, Marta Ribeiro; SOUZA, Lindomar Maria de; NASCIMENTO, Katarina Romênia Pinheiro. *ROS e o estresse oxidativo por seca em plantas*. Multidisciplinary Sciences, v. 3, n. 3, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.54038/ms.v3i3.44>.
- BARROS, F. *et al.* *Orchidaceae*. In: *Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: [20/02/2025].
- CHRYSAIRGIS, Antonios; XYLIA, Panayiota; ZENGİN, Gokhan; TZORTZAKIS, Nikolaos. *Purslane (Portulaca oleracea L.) growth, nutritional, and antioxidant status under different nitrogen levels in hydroponics*. *Horticulturae*, v. 10, n. 9, p. 1007, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/horticulturae10091007>.
- CLEMENTE -MUNOZ, M.A. 1986. *Orchid conservation and trade: are these concepts incompatible?* In: A.M. Pridgeon & J.P. Suarez (eds) *Proceedings of the Second Scientific Conference on Andean Orchids.*, 1986.
- DRONK, A. G. *Meio de cultura e condições de luminosidade para o cultivo in vitro de Cattleya amethystoglossa Linden & Rchb.f.* 2004. Dissertação. (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal do Paraná-PR.
- FARIA, R. T; ASSIS, A. M.; UNEMOTO, L. K.; CARVALHO, J. F. R. P. *Produção de Orquídeas em Laboratório*. 1. ed. Mecenas, Londrina, 2012.
- FAVERO, Bruno Trevenzoli; TAN, Yi; CHEN, Xuefei; MÜLLER, Renate; LÜTKEN, Henrik. *Kalanchoë blossfeldiana naturally transformed with Rhizobium rhizogenes exhibits superior root phenotype*. *Plant and Environmental Sciences, Section for Crop Sciences, University of Copenhagen, Højbakkegård Allé 13, 2630 Tåstrup, Denmark*, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2022.111285>.
- GONÇALVES, L. M. *Efeito de diferentes suplementos adicionados no cultivo in vitro do híbrido Laeliacattleya*. 2010. Tese (Doutorado em Produção Vegetal), Universidade Estadual de Maringá – PR.
- GRIESBACH, R. *Development of Phalaenopsis orchids for the mass-market*. *Trends in New Crops and Uses*, v. 2000, p. 458–465, 2002.
- GUERRA, M. P. *et al.* *Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 34, n. 9, p. 1557–1563, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X1999000900005>.
- HIETZ, P.; BUCHBERGER, G.; WINKLER, M. *Effect of forest disturbance on abundance and distribution of epiphytic bromeliads and orchids*. *Ecotropica*, 2006.
- LEMO, E. E. P.; ALMEIDA, J. S.; NASCIMENTO, L. C.; FERRAZ, M. V. C. *Crescimento in vitro de orquídeas do gênero Cattleya em meios de cultura*

suplementados com extratos vegetais. Revista Ciência Agronômica, v. 50, n. 3, p. 404-412, 2019.

MERIDA, Daniela; PIVETTA, Kathia Fernandes Lopes; MAZZINI-GUEDES, Renata Bachin; CASTRO, Carlos Eduardo Ferreira de; PURQUERIO, Luis Felipe Villani. *Effects of nitrogen fertilization on development, flowering, and mineral nutrition of potted Costus productus Gleason ex Maas*. Journal of Plant Nutrition, v. 40, n. 7, p. 1045–1052, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01904167.2016.1263327>.

MOHAMED, Mostafa H. M.; ALI, Maha Mohamed Elsayed; ZEWAİL, Reda M. Y.; LIAVA, Vasiliki; PETROPOULOS, Spyridon A. *Response of purslane plants grown under salinity stress and biostimulant formulations*. Plants, v. 13, n. 17, p. 2431, 30 ago. 2024. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11397487/>.

MOUCO, M. A. do C.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. *Controle do crescimento vegetativo e floração de mangueiras cv. Kent com reguladores de crescimento vegetal*. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 33, n. 4, p. 1043–1047, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000400001>.

NEILAND MR, WILCOCK CC. *Fruit set, nectar reward, and rarity in the Orchidaceae*. American Journal of Botany, 1998.

OTERO, J. T.; ARAGÓN, S.; ACKERMAN, J. D. *Site variation in spatial aggregation and phorophyte preference in Psychilis monensis (Orchidaceae)*. Biotropica, 2007.

PASQUAL, Giulia et al. *Old-World arenaviruses enter the host cell via the multivesicular body and depend on the endosomal sorting complex required for transport*. PLoS Pathogens, [S.l.], v. 7, n. 9, e1002232, 8 set. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002232>.

PINHEIRO, F., BARROS, F. & LOURENÇO, R.A. 2004. *O que é uma orquídea?* In: Orquidologia Sul-Americana: uma compilação científica. Secretaria do Meio Ambiente/Instituto de Botânica, São Paulo, 2004, pp. 1-33.

RAMALHO, Adriana T.; CURADO, M. P.; NATARAJAN, A. T. *Lifespan of human lymphocytes estimated during a six year cytogenetic follow-up of individuals accidentally exposed in the 1987 radiological accident in Brazil*. Mutation Research, Amsterdam, v. 331, n. 1, p. 47-54, set. 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(95\)00049-O](https://doi.org/10.1016/0027-5107(95)00049-O).

RASMUSSEN, Hanne N.; RASMUSSEN, Finn N. *Orchid mycorrhiza: implications of a mycophagous life style*. Oikos, v. 118, n. 3, p. 334–345, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2008.17116.x>.

RAVENTÓS J, Mujica e, Wiegand T, Bonet A. *Analyzing the Spatial Structure of (Orchidaceae) Populations in the Dry Forests of Guanahacabibes, Cuba*. Broughtonia cubensis Biotropica, 2011.

REIS, José Newton Pires. *Cultivo de orquídeas: uma opção à agricultura familiar?*. Encontro da Sociedade Brasileira de Economia Ecológica, 9, Brasília, 4-8 out. 2011.

SCALOPPI JUNIOR, E. J. *Propagação de espécies de Annonaceae com estacas caulinares*. 2007. 92 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2007.

SOARES, J. D. R. *et al.* Concentrações de sais do meio Knudson C e de ácido giberélico no crescimento *in vitro* de plântulas de orquídea. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 39, n. 3, p. 772–777, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782009000300021>.

SOUZA, Clovis Arruda; COELHO, Cileide Maria Medeiros; GUIDOLIN, Altamir Frederico; ENGELSING, Marcio José; BORDIN, Luiz Carlos. *Influência do ácido giberélico sobre a arquitetura de plantas de feijão no início de desenvolvimento*. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 32, n. 2, p. 325–332, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v32i2.3721>.

SOUZA, M. D. A.; KARSBURG, I. V.; *Eficiência de substrato na aclimação de plantas de Aspasia variegata Lindl. (Orchidaceae) obtidas in vitro*. 2017. Revista Biociências. Taubaté – SP.

SUZUKI, R. M.; FERREIRA, W. M. *Introdução às técnicas de micropropagação de orquídeas*. In: Barbosa, L. M.; Santos Jr., N. A. (orgs.). *A botânica no Brasil: pesquisa, ensino e políticas públicas ambientais*. São Paulo: Imprensa Oficial, 2007. p. 655–659.

TORIBIO, A. J. *et al.* *Prospection of cyanobacteria producing bioactive substances and their application as potential phytostimulating agents*. *Biotechnology Reports*, v. 26, 2020.

TORRES, A. E.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. *Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas*. 2. ed. Brasília: Embrapa Hortaliças, 1998. v. 1. 508 p.

VAISHAMPAYAN, A. *et al.* *Cyanobacterial biofertilizers in rice agriculture*. *The Botanical Review*, v. 67, n. 4, p. 453–516, 2001.

WEISS P, D.; ORI, N. *Mechanisms of cross talk between gibberellin and other hormones*. *Plant Physiology*, v.144, n.3, p.1240-6, 2007.

WINKLER M, HÜLBER K, HIETZ P. *Population dynamics of epiphytic orchids in a metapopulation context*. *Annals of Botany*, 2009.