



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM AGRONOMIA**

WILTON FELIPE TEIXEIRA

**CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE ORQUÍDEAS TROPICAIS
NATIVAS DO OESTE PAULISTA**

Presidente Prudente – SP
2019



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM AGRONOMIA**

WILTON FELIPE TEIXEIRA

**CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE ORQUÍDEAS TROPICAIS
NATIVAS DO OESTE PAULISTA**

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de Concentração: Produção Vegetal

Orientador:
Prof. Dr. Nelson Barbosa Machado Neto

Presidente Prudente – SP
2019

635.934 4
T266c

Teixeira, Wilton Felipe

Conservação de sementes de orquídeas tropicais
nativas do Oeste Paulista / Wilton Felipe Teixeira. –
Presidente Prudente, 2019.

68f.: il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) -
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente
Prudente, SP, 2019.

Bibliografia.

Orientador: Nelson Barbosa Machado Neto

1. Orquídeas-Nativas. 2. Banco-de-Sementes. 3.
Viabilidade-de-Sementes. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE ORQUÍDEAS TROPICAIS NATIVAS DO OESTE PAULISTA"

AUTOR(A): WILTON FELIPE TEIXEIRA

ORIENTADOR(A): NELSON BARBOSA MACHADO NETO

Aprovado(a) como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE em AGRONOMIA

Área de Concentração PRODUÇÃO VEGETAL, pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. Maria Auxiliadora Milaneze Gutierrez

UEM - Universidade Estadual de Maringá / Maringá (PR)


Prof. Dr. Nelson Barbosa Machado Neto

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)


Prof. Dr. Tiago Benedito dos Santos

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Data da realização: Presidente Prudente, 25 de novembro de 2019.

DEDICATÓRIA

Aos amores da minha vida, minha mãe e irmã, e ao jovem que mais duvidou dele mesmo, Wilton Felipe.

AGRADECIMENTOS

A Deus que em sua infinita bondade me concedeu força e alegria ao perceber minhas aflições durante toda minha trajetória acadêmica e profissional.

A minha família, Cilene Maria Felipe (mãe) que sempre me incentivou a buscar conhecimentos e me conduziu por um bom caminho, distante de vícios. A minha irmã Laina Felipe Teixeira por toda disponibilidade em me ajudar com coletas de material botânico ao longo de minha iniciação científica (material utilizado nos experimentos laboratoriais).

Ao meu orientador Prof. Dr. Nelson Machado Barbosa Neto, que desde a minha graduação aceitou me orientar na pós-graduação ao perceber minha paixão pelas orquídeas. Adquiri muito conhecimento e amadureci ainda mais com suas frases sábias: “Isso não é difícil, difícil mesmo é passar fome e não ter o que comer.”

Aos professores e demais funcionários do Programa de Pós-Graduação em Agronomia e de toda UNOESTE: secretarias, tesouraria, biblioteca, clínicas, laboratórios, departamento de bolsas, etc; em especial a Cristiane do Laboratório de Sementes e Cultura de Tecidos Vegetais por sempre me estender a mão, me animar diante de momentos conturbados, e me auxiliar nos meus experimentos.

Aos estagiários, graduandos, pós-graduandos, doutores e outros da Unoeste que se disponibilizaram a me ajudar quando nos momentos em que não pude comparecer ao laboratório. Fico muito agradecido a Jéssica Fontes Fileti, Aline Mendes Alves, Silvério Takao Hosomi, Luciana Midori Takamori, Joice Yuri Minamiguchi, Viviane Cacefo, Jardel de Oliveira, Adriana Mendonça, Milena Cristina e Willian Takata.

Aos funcionários do Parque Estadual do Morro do Diabo (PEMD) por todo carinho, amizade, apoio e companheirismo, em especial ao gestor Eriqui Marqueti Inazaki; e aos seguintes funcionários: Miller Henrique Machado, João Vitor Medeiros Teixeira, Flávia Perosso da Silva, Roberto Gomes Maia, Valéria Fernandes da Costa, Ednaldo dos Santos, Rodrigo Coelho, Thiago do Nascimento de Souza, Ricardo Costa Dulovschi, Nivaldo Rodriguês dos Santos, Claudiney Francisco de Freitas, Adalto do Carmo de Almeida, Fernando Manoel da Silva, Rodrigo Alves dos Santos, Osvaldo Ramos, Wilson Mamédio, Donizeti Araújo, Raul Santos Araújo,

Reginaldo Duarte dos Santos, André Alves de Oliveira, Edna Vidal, Judite, Eurico Lino de Souza Filho, Valdomiro Santos, Edvaldo Santos, Claudionor Santos, Arnaldo Guimarães, Luiz Homero Pereira; ex funcionários: Hilda Francisca, José Maria Avelino, Fábio Prado, Adriele Lyra, Leandro Eliézer, Nelson Alves, Gerson Dias da Costa, Valdemar Félix da Silva, Sebastião Ramos, Daniel, Lúcio de Oliveira e David Ferreira.

Aos amigos Fábio Branquinho, Letícia Seidinger, Renata Udulutsch, Tamyllle Ferraz, Evaldo Quirino e Elelan Machado agradeço imensamente por terem contribuído com minhas pesquisas no PEMD, direta e indiretamente, principalmente através da coleta de sementes de orquídeas.

Aos órgãos ligados a Secretaria do Meio Ambiente, Fundação Florestal por desempenhar excelente trabalho na gerência do PEMD, ao Instituto Florestal pela aprovação de minhas pesquisas no Parque através da Comissão Técnico-Científica do Instituto Florestal (COTEC-IF).

Ao Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) pela autorização para coleta de material botânico no PEMD.

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

“Em tudo somos atribulados, mas não angustiados; perplexos, mas não desanimados; **PERSEGUIDOS**, mas não desamparados; abatidos, mas não destruídos.”

(Apóstolo Paulo)

RESUMO

Conservação de sementes de orquídeas tropicais nativas do Oeste Paulista

Dentre todos os representantes do reino vegetal, a família Orchidaceae é considerada a maior família botânica em quantidade de espécies, apresentando ampla distribuição geográfica e possuindo as menores sementes do mundo. Com o intuito de conservá-las em bancos de sementes, várias instituições vêm empregando técnicas para análises da qualidade fisiológica destas sementes, com a finalidade de armazená-las e garantir a sobrevivência das espécies mais ameaçadas. O objetivo desse estudo foi avaliar a germinação e viabilidade de sementes de cinco espécies de orquídeas tropicais nativas (*Catasetum fimbriatum*, *Cattleya lundii*, *Galeandra beyrichii*, *Macradenia paraensis* e *Zygopetalum maxillare*) do Parque Estadual do Morro do Diabo - Teodoro Sampaio-SP. As sementes foram acondicionadas em um nível de teor de água (6,4%) e duas condições de temperatura (20 °C e -18 °C) no decorrer de seis meses. A qualidade fisiológica das sementes foi avaliada antes e após armazenamento, por meio dos testes de tetrazólio, teste de germinação e índice de velocidade de germinação, que indicam vigor e viabilidade. Utilizou-se o delineamento fatorial de tratamentos 2x3 (duas temperaturas x três tempos de armazenamento) com disposição inteiramente casualizada, contendo 3 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA, $p < 0,05$), sendo a comparação de média feita pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As culturas *in vitro* permaneceram em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas à temperatura de 25 ± 2 °C por, no máximo, 8 semanas. Contudo, para *Galeandra beyrichii* (espécie terrestre) foram utilizadas duas condições de luminosidade, germinação em luz e no escuro e a análise estatística foi feita separadamente. Os resultados mostram que o armazenamento a 20 °C por três e seis meses, não favoreceram *C. fimbriatum*, *G. beyrichii* e *Z. maxillare*, uma vez que, a primeira não germinou no final de seis meses e as duas últimas não germinaram em nenhum período. Na temperatura de 20 °C a espécie *Z. maxillare* demonstrou perda de viabilidade a partir do terceiro mês de armazenamento e *M. paraensis*, a partir do sexto mês. Entretanto a -18 °C, a maioria das espécies estudadas germinaram melhor no decorrer de seis meses, indicando um melhor ambiente de conservação. De acordo com os resultados do teste de tetrazólio, a espécie de *Catasetum* e *Cattleya* mantiveram alta a taxa de viabilidade de sementes nas temperaturas e tempos avaliados, diferentemente de *G. beyrichii* que, nos seis meses de armazenamento, apresentou acentuada perda de viabilidade.

Palavras chave: Orquídeas-Nativas. Bancos-de-Sementes. Viabilidade-de-Sementes. Germinação.

ABSTRACT

Conservation of native tropical orchid seeds from West São Paulo

The Orchidaceae family is considered the largest botanical family in number of species, with a wide geographical distribution and having the smallest seeds in the world. To preserve these species in seed banks, many institutions were using tests to evaluate and analyse the physiological quality of the orchid seeds to store and to ensure the survival of the most endangered species. The objective of this study was to evaluate the germination and seed viability of five native tropical orchid species (*Catasetum fimbriatum*, *Cattleya lundii*, *Galeandra beyrichii*, *Macradenia paraensis* and *Zygopetalum maxillare*) from the Morro do Diabo State Park - Teodoro Sampaio-SP. The seeds were conditioned at a water content level (6.4%) and two temperature conditions (20 °C and -18 °C) over six months. The physiological quality of seeds was evaluated before and after storage by tetrazolium tests, germination test and germination speed index, which indicate vigour and viability. A 2x3 factorial design (two temperatures x three storage times) was used with a completely randomized disposition with 3 replications. Data were submitted to analysis of variance (ANOVA, $p < 0.05$), and the mean comparison was made by Tukey test ($p < 0.05$). The species were placed in a growth room with a photoperiod of 16 hours at 25 ± 2 °C for a maximum of 8 weeks. For *Galeandra beyrichii*, a terrestrial species, two light conditions were used, germination under lights and in the dark and statistical analysis was performed separately. The results show that storage at 20 °C for 3 and 6 months did not favor *C. fimbriatum*, *G. beyrichii* and *Z. maxillare*, since the first did not germinate at the end of six months and the last two did not germinate in any period. At 20 °C the *Z. maxillare* species showed loss of viability since the first three months of storage and *M. paraensis* from the sixth month. However, at -18 °C most species studied germinated better over six months, indicating a better conservation environment. According to the results of the tetrazolium test, the species *Catasetum* and *Cattleya* kept the viability rate high at the evaluated temperatures and times, unlike *G. beyrichii* which in the six months of storage showed a marked loss of viability.

Key-words: Native-Orchids. Seed-Banks. Seed-Viability. Germination.

LISTA DE SIGLAS

BA	– Bahia
CAPES	– Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
COTEC-IF	– Comissão Técnico-Científica do Instituto Florestal
DDCA	– Dicloroisocianurato de sódio
DF	– Distrito Federal
DNA	– Ácido desoxirribonucleico
dpi	– <i>Dots Per Inch</i> (Pontos por polegadas)
ES	– Espírito Santo
FF	– Fundação Florestal
G	– Germinação
g.L	– Gramas por litro
GO	– Goiás
IF	– Instituto Florestal
IVG	– Índice de velocidade de germinação
LC	– <i>Least Concern</i> (Pouco preocupante)
mg	– Miligrama
MG	– Minas Gerais
mL	– Mililitro
mm	– Milímetro
MMA	– Ministério do Meio Ambiente
MS	– Mato Grosso do Sul
MT	– Mato Grosso
NE	– <i>Not Evaluated</i> (Não avaliado)
PA	– Pará
PEMD	– Parque Estadual do Morro do Diabo
pH	– Potencial Hidrogeniônico
PR	– Paraná
RJ	– Rio de Janeiro
RO	– Rondônia
RS	– Rio Grande do Sul
SC	– Santa Catarina

SISBIO	– Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SISVAR	– Sistema de Análise de Variância
SP	– São Paulo
TO	– Tocantins
TZ	– Tetrazólio
VU	– <i>Vulnerable</i> (Vulnerável)

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1-	Flores masculinas de <i>Ctsm. fimbriatum</i>	25
FIGURA 2-	Flor de <i>C. lundii</i>	26
FIGURA 3-	Flor de <i>Gal. beyrichii</i>	27
FIGURA 4-	Flor de <i>Mcdn. paraensis</i>	28
FIGURA 5-	Flor de <i>Z. maxillare</i>	29
FIGURA 6-	Mapa com a localização do Parque Estadual do Morro do Diabo.....	30
FIGURA 7-	Fruto de <i>Ctsm. fimbriatum</i> com sementes, antes do condicionamento.....	32
FIGURA 8-	Imagem de sementes de <i>C. lundii</i> após pré-condicionamento e teste de tetrazólio. Sementes viáveis estão coradas em vermelho (A); sementes não viáveis apresentam cor branca (B) e, estruturas sem embrião são consideradas “palhas” (C).....	33
FIGURA 9-	Culturas de sementes de orquídeas, acondicionadas a 25 ± 2 °C com fotoperíodo de 16 horas.....	34
FIGURA 10-	Imagem de germinação de <i>C. lundii</i> . A – sementes germinadas, B - sementes não germinadas.....	35
FIGURA 11-	Teste de tetrazólio para as sementes de <i>Ctsm. fimbriatum</i> (A), <i>C. lundii</i> (B), <i>Gal. beyrichii</i> (C), <i>Mcdn. paraensis</i> (D) e <i>Z. maxillare</i> (E) antes de serem armazenadas.....	37
FIGURA 12-	Germinação acumulada (%) de sementes de <i>Ctsm. fimbriatum</i> , acondicionadas a 6,4% de teor de água e armazenadas em duas condições, a 20 °C (A) e -18 °C (B), inicialmente e após três e seis meses de armazenamento.....	39
FIGURA 13-	Germinação final de sementes de <i>Ctsm. fimbriatum</i> em cultivo <i>in vitro</i> , acondicionadas nas temperaturas de 20 °C e -18 °C, no período de três e seis meses de armazenamento.....	40
FIGURA 14-	Germinação acumulada (%) de sementes de <i>C. lundii</i> , acondicionadas a 6,4% de teor de água e armazenadas em duas condições, a 20 °C (A) e -18 °C (B), inicialmente e após três e seis meses de armazenamento.....	43
FIGURA 15-	Germinação final de sementes de <i>C. lundii</i> em cultivo <i>in vitro</i> , acondicionadas nas temperaturas de 20 °C e -18 °C, no período de três e seis meses de armazenamento.....	44
FIGURA 16-	Germinação acumulada (%) de sementes de <i>Gal. beyrichii</i> , acondicionadas a 6,4% de teor de água e armazenadas em duas condições, a 20 °C (A (luz)), -18 °C (B (luz)) e 20 °C (C (escuro)) e, -18 °C (D (escuro)), inicialmente e após três e seis meses de armazenamento.....	47
FIGURA 17-	Germinação final de sementes de <i>Gal. beyrichii</i> em cultivo	

	<i>in vitro</i> , acondicionadas nas temperaturas de 20 °C e -18 °C, no período de três e seis meses de armazenamento e em ambiente iluminado.....	48
FIGURA 18-	Germinação final de sementes de <i>Gal. beyrichii</i> em cultivo <i>in vitro</i> , acondicionadas nas temperaturas de 20 °C e -18 °C, no período de três e seis meses de armazenamento e em ambiente escuro.....	49
FIGURA 19-	Germinação acumulada (%) de sementes de <i>Mcdn. paraensis</i> , acondicionadas a 6,4% de teor de água e armazenadas em duas condições, a 20 °C (A) e -18 °C (B), inicialmente e após três e seis meses de armazenamento.....	52
FIGURA 20-	Germinação final de sementes de <i>Mcdn. paraensis</i> em cultivo <i>in vitro</i> , acondicionadas nas temperaturas de 20 °C e -18 °C, no período de três e seis meses de armazenamento.....	53
FIGURA 21-	Germinação acumulada (%) de sementes de <i>Z. maxillare</i> acondicionadas a 6,4% de teor de água e armazenadas em duas condições, a 20 °C (A) e -18 °C (B), inicialmente e após três e seis meses de armazenamento.....	56
FIGURA 22-	Germinação final de sementes de <i>Z. maxillare</i> em cultivo <i>in vitro</i> , acondicionadas nas temperaturas de 20 °C e -18 °C, no período de três e seis meses de armazenamento.....	57

LISTA DE TABELAS

TABELA 1-	Nome das espécies e local de ocorrência dentro do território brasileiro. NE – Espécie não avaliada quanto à ameaça; LC – Pouco preocupante; VU – Vulnerável.....	31
TABELA 2-	Resultados dos testes iniciais de tetrazólio (TZ) e germinação (G).....	36
TABELA 3-	Teste de tetrazólio (%) aplicado às sementes de <i>Ctsm. fimbriatum</i> , antes e após o armazenamento sob diferentes temperaturas.....	38
TABELA 4-	Análise do desdobramento da germinação e índice de velocidade de germinação em <i>Ctsm. fimbriatum</i>	41
TABELA 5-	Teste de tetrazólio (%) aplicado às sementes de <i>C. lundii</i> , antes e após o armazenamento sob diferentes temperaturas....	42
TABELA 6-	Análise do desdobramento da germinação e índice de velocidade de germinação em <i>C. lundii</i>	45
TABELA 7-	Teste de tetrazólio (%) aplicado às sementes de <i>Gal. beyrichii</i> , antes e após o armazenamento sob diferentes temperaturas....	46
TABELA 8-	Análise do desdobramento da germinação e índice de velocidade de germinação em <i>Gal. beyrichii</i>	50
TABELA 9-	Teste de tetrazólio (%) aplicado às sementes de <i>Mcdn. paraensis</i> , antes e após o armazenamento sob diferentes temperaturas.....	51
TABELA 10-	Análise do desdobramento da germinação e índice de velocidade de germinação em <i>Mcdn. paraensis</i>	54
TABELA 11-	Teste de tetrazólio (%) aplicado às sementes de <i>Z. maxillare</i> , antes e após o armazenamento sob diferentes temperaturas....	55
TABELA 12-	Análise do desdobramento da germinação e índice de velocidade de germinação em <i>Z. maxillare</i>	58

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	OBJETIVO.....	18
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
3.1	Evolução, hábitos e habitats das orquídeas.....	19
3.2	Classificação taxonômica e biogeográfica das orquídeas.....	19
3.3	Importância econômica das orquídeas.....	20
3.4	Sementes de orquídeas, armazenamento e germinação.....	21
3.5	Teste de vigor e viabilidade.....	23
3.6	Descrições das espécies utilizadas nesse estudo.....	24
3.6.1	<i>Catasetum fimbriatum</i>	24
3.6.2	<i>Cattleya lundii</i>	26
3.6.3	<i>Galeandra beyrichii</i>	27
3.6.4	<i>Macradenia paraensis</i>	28
3.6.5	<i>Zygopetalum maxillare</i>	29
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1	Local do experimento e sementes utilizadas.....	30
4.2	Teste de tetrázólio (TZ%).....	32
4.3	Desinfecção e teste de germinação <i>in vitro</i> (G%).....	33
4.4	Contagem das sementes.....	34
4.5	Delineamento e análises estatísticas.....	35
5	RESULTADOS.....	36
5.1	Análises de germinação, teste de tetrázólio e IVG.....	36
5.1.1	<i>Catasetum fimbriatum</i>	38
5.1.2	<i>Cattleya lundii</i>	42
5.1.3	<i>Galeandra beyrichii</i>	46
5.1.4	<i>Macradenia paraensis</i>	51
5.1.5	<i>Zygopetalum maxillare</i>	55
6	DISCUSSÃO.....	59
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	61
8	CONCLUSÃO.....	62
	REFERÊNCIAS.....	63

1 INTRODUÇÃO

As orquídeas apresentam-se em vários formatos, cores e tamanhos, sendo uma das flores mais famosas e requisitadas de todo o mundo. Apresentam diversas finalidades de uso, desde a indústria alimentícia até empresas que trabalham com flores de corte ou plantas de vaso, devido ao valor ornamental que muitas apresentam.

Considerada uma das maiores e mais diversificadas famílias botânicas, tanto em número de espécies como em variedades, estas plantas apresentam ampla distribuição geográfica. Todavia, as regiões que exibem a maior diversidade de espécies são os trópicos. Atualmente existe cerca de 29.000 espécies registradas no mundo e o Brasil possui aproximadamente 10% desse total (FLORA DO BRASIL, 2020).

Com a fragmentação dos habitats e a coleta predatória de orquídeas, houve uma significativa redução de populações de várias espécies, principalmente as que apresentam valor ornamental. Com isso diversas espécies, atualmente, encontram-se na Lista Nacional Oficial das Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção.

Diante disso, a conservação de sementes de orquídeas, por via de armazenamento em ambientes controlados, em relação a condições de umidade e temperatura é um método viável, uma vez que, há uma acentuada quantidade de sementes em seus frutos. Contudo, muitas sementes, no seu processo de desenvolvimento, não formam os embriões. Por isso, destaca-se a importância de fazer uso dos testes que avaliam a qualidade fisiológica das sementes, antes de serem destinadas ao armazenamento.

Quanto aos tipos de armazenamento de sementes, para cada espécie de orquídea devem ser empregadas metodologias distintas. Por isso, é importante estudar as condições adequadas para acondicionar as sementes, visando conservá-las viáveis por mais tempo. Um exemplo de armazenamento é manter as sementes em baixas temperaturas, seja em nitrogênio líquido, freezer ou geladeira, com baixos teores de água. Essas condições possibilitam maior longevidade das sementes, uma vez que, reduzem seu metabolismo, evitando e/ou diminuindo o processo de deterioração. O estudo da condição de armazenamento de sementes deve ser muito

bem avaliado, posto que, há a classificação de sementes ortodoxas, recalcitrantes e dormentes nas orquídeas.

A proposta deste trabalho foi de conduzir testes com algumas espécies de orquídeas nativas oriundas do Parque Estadual do Morro do Diabo, área de Mata Atlântica Estacional Semidecídua no interior do Estado de São Paulo, com a finalidade de avaliar a conservação e a viabilidade de sementes em ambientes controlados.

2 OBJETIVO

Avaliar a germinação e a viabilidade de sementes de cinco espécies de orquídeas tropicais, nativas do Oeste Paulista, sendo elas: *Catasetum fimbriatum* (C. Morren) Lindl.; *Cattleya lundii* (Rchb.f. & Warm .) Van den Berg.; *Galeandra beyrichii* (Rchb.f.); *Macradenia paraensis* (Barb.Rodr.) e *Zygopetalum maxillare* (Lodd.) acondicionadas a 6,4% de teor de água. As sementes foram armazenadas em duas diferentes temperaturas (20 °C e -18 °C) e as avaliações foram feitas inicialmente e após três e seis meses de armazenamento.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Evolução, hábitos e habitats das orquídeas

As orquídeas pertencem a um grupo de plantas que provavelmente surgiu no final do período Cretáceo. No final do século XX (ano 2000), cientistas descobriram, na República Dominicana, uma abelha sem ferrão fossilizada em âmbar, cujas asas estavam cobertas por políneas de orquídea. Diante do achado, acredita-se que o ancestral comum das orquídeas viveu entre 80 milhões de anos (RAMÍREZ *et al.*, 2007; POINAR; RASMUSSEN, 2017).

De hábito herbáceo, as orquídeas apresentam formas de vida desde terrícolas, rupícolas, micoheterotróficas, mas principalmente epífitas (PABST; DUNGS, 1975). Contudo muitas espécies podem apresentar mais de um tipo de substrato, tendo como exemplo o gênero *Zygopetalum*, que ao se desprender de um forófito de samambaiçu, pode permanecer vivo, em solo bem drenado e com serapilheira. Dentre todas as importâncias que as orquídeas denotam, a ecológica é a principal, uma vez que, são vegetais bioindicadores da qualidade florestal, indicando se determinada área foi degradada através de desmatamento ou queimadas (NETO *et al.*, 2007; ROMANINI, 2006).

Algumas subfamílias estão incluídas na família Orchidaceae, apresentando características distintas quanto às formas de vida que possuem, e tais particularidades favorece o aumento da extensão geográfica das espécies por diversos tipos de ambientes (MELLO; PANTOJA, 2014).

3.2 Classificação taxonômica e biogeográfica das orquídeas

As orquídeas são as fanerógamas mais diversificadas do reino vegetal, com aproximadamente 29.000 espécies distribuídas em 736 gêneros (GOVAERTS *et al.*, 2016; THE PLANT LIST, 2013). Do grupo das Angiospermas, pertencem ao clado Monocotiledônea e, segundo a classificação taxonômica atual, estas plantas estão inseridas na ordem Asparagales, subdivididas em cinco subfamílias: Apostasioideae, Vanilloideae, Cyripedioideae, Orchidoideae, Epidendroideae (CAMERON, 2006).

O território brasileiro registra mais de 2.400 espécies de orquídeas distribuídas em quase 220 gêneros e o Estado de São Paulo 738 espécies (BARROS *et al.*, 2015; ULLOA *et al.*, 2017; FLORA DO BRASIL, 2020). Porém segundo Minambiente (2015), é a Colômbia o país com maior número de espécies no mundo, registrando 4.270 espécies, sendo 1.572 delas endêmicas, agrupados em 274 gêneros, distribuídos em quase todo o território colombiano.

3.3 Importância econômica das orquídeas

As orquídeas formam um grupo de plantas com maior potencial de comercialização devido ao valor ornamental (ROBERTS; DIXON, 2008). Em razão das características florais e durabilidade que apresentam, facilmente são encontradas em floriculturas como flores de corte e/ou plantas de vaso (STANCATO; BEMELMANS; VEGRO, 2001). Para Takane e Yanagisawa (2007) as orquídeas são valorizadas comercialmente no Brasil e fora do país e, em virtude do emprego de técnicas de propagação e cultivo, avança-se as perspectivas de mercado. Em 2017 a importação de mudas de orquídeas no Brasil movimentou mais de 17 milhões de dólares (BRAINER, 2018).

A família Orchidaceae também é utilizada para fins alimentícios e medicinais. De acordo com Divakaran, Babu e Peter (2006) os frutos maduros e secos do gênero *Vanilla*, conhecido como baunilha (exemplo *V. planifolia*) são utilizados para a fabricação de essência alimentícia através da extração de vanilina. Outras espécies de orquídeas, tais quais, as do gênero *Dendrobium*, são utilizadas como alimentos devido à grande quantidade de fenantrenos, flurenonas, ésteres aromáticos e outras substâncias que possuem atividades antimutagênicas, antitumorais e antioxidantes (CHEN *et al.*, 2008). Na Universidade Federal do Rio de Janeiro, os pesquisadores Barreto e Parente (2006) extraíram polissacarídeo do pseudobulbo de *Cyrtopodium cardiochilum*, substância com grande potencial terapêutico para o tratamento de processo inflamatório e desordens imunorregulatórias.

3.4 Sementes de orquídeas, armazenamento e germinação

Na natureza, após a polinização das flores das orquídeas, começa a formação das cápsulas, sendo que o número de sementes pode variar de algumas centenas a milhares. Cada espécie possui um período de maturação diferente e, quando as cápsulas se abrirem e ocorrer a dispersão de sementes, poucas delas terão a oportunidade de germinar e chegar a fase adulta (YAM; ARDITTI, 2009).

Estudos confirmam que as sementes de orquídeas, naturalmente, só conseguem germinar, caso ocorra uma associação mutualística com fungo micorrízico (RASMUSSEN, 2002). Segundo Brito (2005) e Pereira *et al.* (2003) este processo simbiótico é extremamente importante na continuação do ciclo de vida das espécies, pois os fungos micorrízicos fornecem nutrientes para germinação, crescimento e desenvolvimento das plântulas de orquídeas.

Diante da grande quantidade de sementes que as orquídeas produzem e devido ao fato de muitas espécies estarem ameaçadas, o armazenamento destas, em bancos de sementes, apresenta grande interesse para a conservação em longo prazo. Contudo, naturalmente no decorrer do tempo as sementes vão perdendo a capacidade fisiológica devido ao processo de deterioração (NODARI *et al.*, 1998). De acordo com Mei *et al.* (2010) as condições de estresse nas sementes, induzem a produção de espécies reativas de oxigênio, causando danos à viabilidade, pois os radicais livres formados através do estresse são capazes de modificar as estruturas das enzimas. Segundo Marcos-Filho (2005) a ação dos radicais livres nas sementes, geram a degradação oxidativa dos lipídeos, conhecida como peroxidação lipídica, que prejudica as funções da membrana.

Em resposta ao estresse oxidativo, pode ocorrer nas sementes a ativação do sistema antioxidante, envolvendo a ação da enzima superóxido dismutase, a qual, favorece a eliminação dos radicais livre e reduz o dano oxidativo (YU; RENGEL, 1999; MARTINS *et al.*, 2011).

Não é possível manter sementes vivas eternamente, pois a deterioração ocorre mesmo durante o armazenamento. Todavia, cada espécie de orquídea pode responder diferentemente às condições de estocagem, e por isso diferentes tratamentos são realizados a fim de compreender o meio mais adequado de armazenar determinada espécie (SEATON; PRITCHARD, 2008).

É necessário distinguir os métodos de estocagens devido à existência de duas categorias de sementes, as recalcitrantes, que não toleram baixas temperaturas e dessecação durante o processo de armazenamento, e as ortodoxas, que resistem à perda de água e condicionamento em temperaturas baixas (ROBERTS, 1973; PUPIM *et al.*, 2009). Outros autores definiram uma terceira classificação para sementes que apresentam comportamento recalcitrante e ortodoxo, definindo-as como intermediárias (ELLIS; HONG; ROBERT, 1990). As sementes intermediárias são aquelas que toleram secagem a 10 e 12% de umidade, mas perdem a viabilidade quando estocadas sob a temperaturas baixas por longo período de armazenamento (HONG; ELLIS, 1996). De acordo com Harrington (1972) para cada grau de percentagem de umidade, a menos, nas sementes, o tempo de conservação dobra e para cada 5,5 °C a menos, a o tempo de conservação também dobra e estes fatores, quando em conjunto, têm seus efeitos multiplicados.

Quanto à longevidade de sementes ortodoxas, que é o período de tempo a qual as sementes se mantêm viáveis, as espécies são classificadas em três grupos; as de vida curta, alcançando com longevidade menor que 25 anos, vida média com longevidade de 30 a 70 anos e as de alta longevidade, as quais se conservam por mais de 60 anos (WALTERS; HILL; WHEELER, 2005). Portanto, o controle do teor de água nas sementes, bem como a temperatura de armazenamento, regulará a longevidade de cada espécie no banco de sementes. A grande maioria das espécies de orquídeas já estudadas apresenta-se como ortodoxa de vida curta (MACHADO NETO; CUSTÓDIO, 2005b).

Em laboratórios, a germinação de sementes de orquídeas *in vitro* acontece em meios nutritivos (esterilizados) com macro e micronutrientes, fontes de carbono (açúcares), vitaminas e orgânicos complexos em ambiente controlado (FILETI *et al.*, 2015). O início da germinação ocorre com a hidratação das sementes através do processo de absorção de água, favorecendo a retomada dos processos metabólicos e resultando no reinício do desenvolvimento do embrião (MARCOS FILHO, 2005; FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Entretanto, muitas espécies com sementes viáveis e em condições ambientais favoráveis, atrasam a germinação devido ao processo denominado dormência de sementes (VASCONCELOS *et al.*, 2010). Na natureza esse fenômeno pode ser considerado vantajoso para a perpetuação das espécies, uma vez que,

impede a germinação de todas as sementes em períodos com intempéries ambientais, cujas consequências possam prejudicar o embrião (SANTOS *et al.*, 2015).

De acordo com o trabalho de Cardoso (2009) nos anos 80 foram reconhecidos dois tipos de dormência de sementes: a dormência do embrião, desenvolvida pela imaturidade ou inibição do metabolismo embrionário; e a dormência relacionada ao tegumento da semente, na qual, a impermeabilidade impede a germinação. No decorrer dos anos foi intensificado os trabalhos sobre dormência de sementes, portanto houve a classificação desse fenômeno em classe, níveis e tipos. Para Baskin e Baskin (2004) a dormência de sementes pode ser classificada em alguns tipos: Fisiológica, que pode ter relação com hormônios de crescimento; Morfológica, relacionada ao subdesenvolvimento do embrião; Morfofisiológica, apresentando característica de dormência morfológica e fisiológica ou Física, causada em razão de tegumento espesso ou duro que impossibilita a permeação de água e/ou gases no interior da semente, impedindo a retomada das atividades metabólicas.

3.5 Teste de vigor e viabilidade

Testes de vigor avaliam a qualidade fisiológica das sementes, com isso os testes, frequentemente utilizados, são o envelhecimento acelerado, deterioração controlada, índice de germinação de sementes (IVG) e teste de frio, como nos trabalhos de Hosomi *et al.* (2011), Hosomi *et al.* (2012), Fileti *et al.* (2015). No entanto o período de obtenção das respostas varia (dias, semanas ou meses) em conformidade com a espécie, ainda mais quando existe algum tipo de dormência (MARCOS FILHO, 2005).

Com o objetivo de apontar o vigor e a viabilidade de sementes, diversos testes rápidos podem ser empregados, no intuito de determinar a qualidade fisiológica de sementes de inúmeras culturas, como o teste de tetrazólio, considerado indireto, rápido e viável (CERVI; MENDONÇA, 2009; GRZYBOWSKI *et al.*, 2012). Para sementes de orquídeas, Hosomi *et al.* (2011; 2012) melhorou metodologias existentes como a de Singh (1981).

Esse teste é capaz de identificar, visivelmente, sementes apresentando embrião viável e não viável, uma vez que, a atividade das enzimas desidrogenases,

nas mitocôndrias das sementes, reduz o sal de tetrazólio (2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio) nos tecidos vivos do embrião, formando um composto não difusível de cor vermelha chamado trifenilformazan, indicando que há viabilidade celular (PIÑA-RODRIGUES; FIGLIOLIA; PEIXOTO, 2004; MARCOS FILHO, 2015). Todavia, caso as desidrogenases não estiverem ativas, o tecido embrionário não ficará corado, expressando que não há atividade respiratória, ou seja, as sementes estão mortas (LAZAROTTO *et al.*, 2011).

No caso de sementes de orquídeas, para obter informações quanto à qualidade das sementes de um determinado lote, o teste de germinação torna-se o mais indicado, visto que determina o potencial germinativo das mesmas. Contudo o pré-condicionamento em solução de sacarose 10% (temperatura ambiente) e uso de concentrações de tetrazólio 1% com período de exposição acima de 24 horas em banho-maria a 40°C no escuro, torna-se imprescindível para alcançar resultados confiáveis sobre a qualidade das sementes (HOSOMI *et al.*, 2011).

3.6 Descrições das espécies utilizadas nesse estudo

3.6.1 *Catasetum fimbriatum*

Ctsm. fimbriatum (C. Morren) Lindl (Figura 1) é uma erva epífita, que no Brasil está distribuída nas regiões Norte, Centro-Oeste, Sudeste e Sul pelos biomas de Cerrado e Mata Atlântica (BARROS *et al.*, 2015). Podem apresentar flores monóclinas como também díclinas em plantas dióicas e/ou monóicas. São extremamente adaptadas a condições climáticas adversas, e sua floração geralmente ocorre de janeiro a fevereiro, mas pode alterar dependendo do estado de origem (FERREIRA, 2005).

As abreviações das espécies de orquídeas seguem a norma de nomenclatura adotada pela Royal Horticultural Society (2019).

FIGURA 1 – Flores masculinas de *Ctsm. fimbriatum*.



Fonte: Próprio autor.

3.6.2 *Cattleya lundii*

C. lundii (Rchb.f. & Warm.) Van den Berg (Figura 2) é uma erva epífita que recentemente deixou de fazer parte do gênero *Laelia* Lindl. devido às análises de dados de sequências de DNA ribossômicos nucleares realizadas por Van Den Berg (2008). Esta espécie de orquídea possui distribuição geográfica para as regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul, com ocorrências confirmadas tanto no Cerrado como na Mata Atlântica (FLORA DO BRASIL, 2020). O gênero *Cattleya* possui elevada importância no segmento de floricultura e seu cultivo vem sendo realizado desde o século XIX (PINHEIRO *et al.*, 2012).

FIGURA 2 – Flor de *C. lundii*.



Fonte: Próprio autor.

3.6.3 *Galeandra beyrichii*

Gal. beyrichii (Rchb.f.) (Figura 3) é uma orquídea terrícola pertencente a sub-tribo Catasetinae, sendo reconhecida principalmente por não possuir folhas, ser provavelmente saprófita, apresentar flores com labelo em forma de funil, além de raízes cilíndricas fasciculadas e pseudobulbos. A espécie possui distribuição geográfica em todos os estados brasileiros, possuindo maior registro no Sul e Sudeste, com mais de 60 *vouchers* em herbários e apenas um registro na região Norte (BRAGA; MONTEIRO; SMIDT, 2015; SPECIESLINK, 2017).

FIGURA 3 - Flor de *Gal. beyrichii*.



Fonte: Próprio autor.

3.6.4 *Macradenia paraensis*

Macradenia paraensis (*Mcdn paraensis*) (Barb.Rodr.) (Figura 4) é uma epífita que cresce nas adjacências das matas de galerias, e possui ampla distribuição geográfica no Brasil (FERREIRA; LIMA; PANSARIN, 2010). A espécie foi considerada criticamente ameaçada de extinção de acordo com os critérios da IUCN (2012), e atualmente está classificada como vulnerável na lista oficial de flora ameaçada de extinção no Estado de São Paulo (SMA, 2016).

FIGURA 4 – Flor de *Mcdn. paraensis*.



Fonte: Próprio autor.

3.6.5 *Zygopetalum maxillare*

Z. maxillare (Lood.) (Figura 5) é uma erva epífita, todavia pode apresentar hábito terrícola, caso haja condições favoráveis para seu crescimento e desenvolvimento (luz, água e nutrientes). Na Mata Atlântica a espécie cresce em ambientes de sub-bosque alagados, utilizando como suporte, forófitos de Samambaiçu (*Dicksonia sellowiana*), se beneficiando de nutrientes da matéria orgânica em decomposição nessas pteridófitas. A espécie está presente nas regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul, com maior registro no Paraná (BARROS *et al.*, 2015; ROMANINI, 2006).

FIGURA 5 – Flor de *Z. maxillare*.



Fonte: Próprio autor.

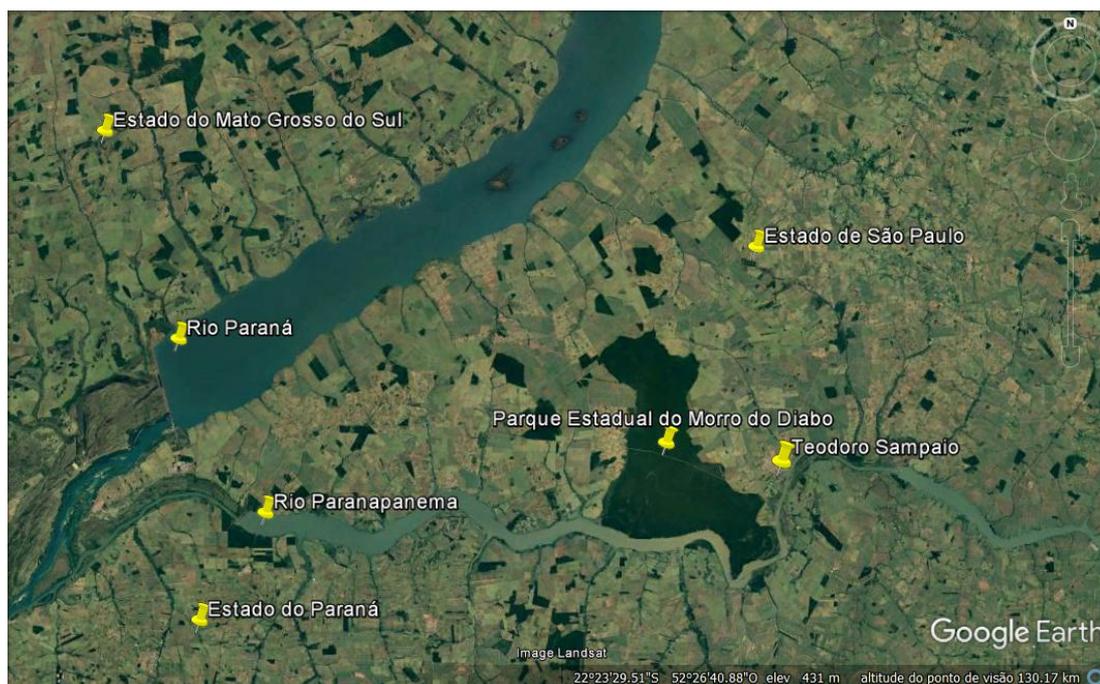
4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local do experimento e sementes utilizadas

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), município de Presidente Prudente (SP).

As sementes utilizadas nesse experimento são provenientes do Parque Estadual do Morro do Diabo (Figura 6), localizado nas coordenadas 22° 27' a 22° 40' de latitude S e 52° 10' a 52° 22' de longitude (Mata Atlântica de Interior) no município de Teodoro Sampaio (SP).

FIGURA 6 – Mapa com a localização do Parque Estadual do Morro do Diabo.



Fonte: Google Earth
Modificado pelo autor

Foram coletadas por Teixeira, Hosomi e Machado Neto (2018) em diferentes períodos de 2018 (conforme o período de frutificação de cada espécie) durante o levantamento florístico da família Orchidaceae. Os testes foram realizados com cinco espécies de orquídeas tropicais nativas, tendo suas origens em diversas localidades do Brasil (Tabela 1). Dentre as espécies de orquídeas desse estudo,

apenas *Gal. beyrichii* é uma planta terrícola, áfila, com pseudobulbo subterrâneo e provavelmente saprófita (PRIDGEON *et al.*, 2009), embora Ferreira (2009) conteste essa afirmação de saprofitismo em orquídeas. Em virtude disso, no teste de germinação para a espécie *Gal. beyrichii* foi utilizado a condição de germinação com e sem luz, uma vez que, para Arditti *et al.* (1982), espécies de orquídeas terrícolas germinam no escuro.

TABELA 1 - Nome das espécies e local de ocorrência dentro do território brasileiro. NE – Espécie não avaliada quanto à ameaça; LC – Pouco preocupante; VU – Vulnerável.

Nome da espécie	Local de ocorrência/Estado de conservação
<i>Catasetum fimbriatum</i>	PA, RO, DF, GO, MS, MT, MG, SP, PR, SC, RS (LC)
<i>Cattleya lundii</i>	DF, GO, MG, SP, PR (NE)
<i>Galeandra beyrichii</i>	BA, DF, GO, MT, ES, MG, RJ, SP, PR, SC, RS (LC)
<i>Macradenia paraensis</i>	PA, RO, TO, GO, MS, MT, MG, SP (VU)
<i>Zygopetalum maxillare</i>	BA, MT, ES, MG, RJ, SP, PR, SC, RS (LC)

Fonte: BARROS *et al.* (2015) e SMA (2016).

Dos frutos maduros foram coletados, as sementes (Figura 7), as quais foram colocadas em envelope de papel, sendo estes mantidos em sílica gel, sob temperatura ambiente, até serem destinadas ao laboratório.

Os lotes de sementes foram selecionados manualmente, as sementes limpas e sem detritos foram colocadas em tubos Falcon de 15 mL, mantidos abertos dentro de uma câmara hermética contendo solução saturada de cloreto de lítio por duas semanas (HAY *et al.*, 2008) com umidade relativa de 11%, e deixadas por duas semanas até o equilíbrio com teor de água de 6,4% segundo Hengling (2015). Após este período os tubos foram fechados e colocados em câmara contendo sílica gel e estocadas em duas condições de temperaturas, 20 °C (sala que mantém temperatura estável) e -18 °C (freezer horizontal), durante três e seis meses. A temperatura foi controlada através de termostato e termômetro.

Na primeira fase do teste de germinação, foi realizado ensaios antes dos tratamentos. Os testes foram conduzidos até a estabilização da germinação, ou seja, o 42° dia para *Ctsm. fimbriatum*, *C. lundii* e *Mcdn. paraensis* e até o 56° dia para *Gal. beyrichii* e *Z. maxillare*. Após três e seis meses de estocagem, foram repetidos os ensaios de germinação *in vitro*, nas mesmas condições acima.

FIGURA 7 – Fruto de *Ctsm. fimbriatum* com sementes, antes do condicionamento.



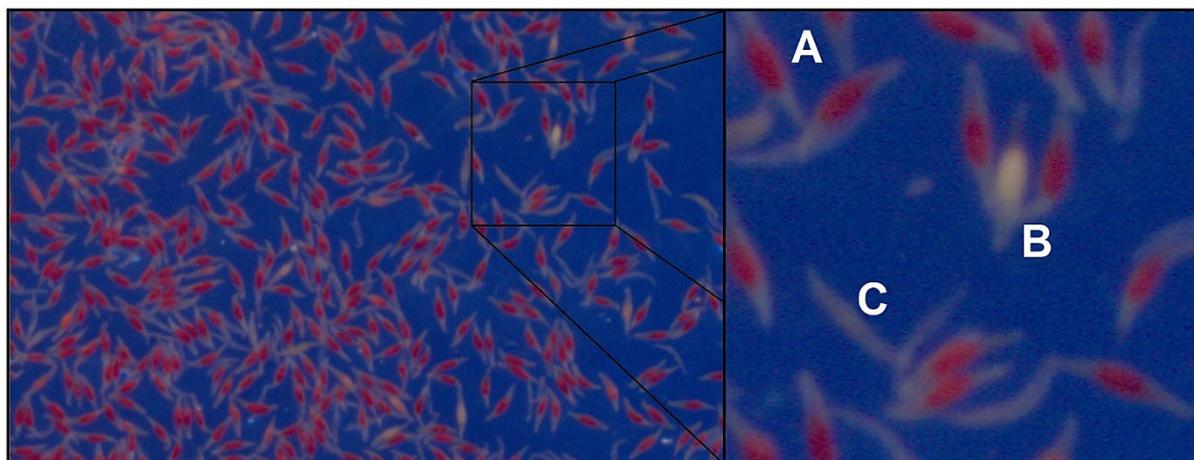
Fonte: Próprio autor.

4.2 Teste de tetrazólio (TZ%)

Uma amostra de 10 mg de sementes foi inserida em microtubos de 1,5 mL, imersas em solução de sacarose 10% p/v, e deixadas à temperatura ambiente por 24 h. Após este período, a solução foi descartada com micropipeta e as sementes lavadas por duas vezes com água destilada. Em seguida, foram adicionadas aos microtubos com solução de tetrazólio 1%, e deixados em banho-maria a 40°C no escuro por 24 h, seguindo o protocolo de Hosomi *et al.* (2011).

Após o processo de pré-condicionamento a solução de tetrazólio foi descartada e as sementes preparadas em lâmina de microscopia. Foi utilizado scanner para capturar imagens das sementes, com resolução de 3600 dpi (FILETI, 2015). Para a identificação das sementes viáveis (embrião corados na cor vermelho) (Figura 8), foi utilizado o método de contagem na tela de computador através de imagens aumentadas em programa de “Visualização de fotos”. A lâmina foi dividida em três campos com sementes.

FIGURA 8 – Imagem de sementes de *C. lundii* após pré-condicionamento e teste de tetrazólio. Sementes viáveis estão coradas em vermelho (A); sementes não viáveis apresentam cor branca (B) e, estruturas sem embrião são consideradas “palhas” (C).



Fonte: Próprio autor.

4.3 Desinfecção e teste de germinação *in vitro* (G%)

O meio de cultura utilizado nos testes de germinação foi o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) à ½ concentração, contendo Ágar (6g L^{-1}), sacarose 30 g L^{-1} e o pH ajustado para 5,6. O meio foi autoclavado por 20 minutos a 121°C e 1 atm. Por fim, o meio foi distribuído em placas de Petri de diâmetro 60 mm x 15 mm de altura, em câmara de fluxo laminar.

Previamente ao processo de sementeira, 10 mg de sementes de cada espécie foram desinfetados com DDCA (Dicloroisocianurato de sódio - 5g.L^{-1}) diluído em água destilada e 100 μl de Tween 80, dentro de uma seringa 3 mL por um período de 10 minutos. Durante a desinfecção das sementes, a seringa foi agitada algumas vezes, e deixadas imersas na solução desinfetante. As sementes foram lavadas duas vezes com água destilada autoclavada e sementeiras por gotejamento em 3 placas de petri, as quais foram seladas com filme plástico, identificadas com o nome da espécie de orquídea e levadas à sala de crescimento com temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ com fotoperíodo de 16 h, durante o período de 8 semanas (Figura 9). Na sala de crescimento foram utilizadas lâmpadas fluorescentes com intensidade luminosa de. A sementeira foi realizada em câmara de fluxo laminar (MACHADO NETO; CUSTÓDIO, 2005a).

FIGURA 9 – Culturas de sementes de orquídeas, acondicionadas a 25 ± 2 °C com fotoperíodo de 16 horas.



Fonte: Próprio autor.

4.4 Contagem das sementes

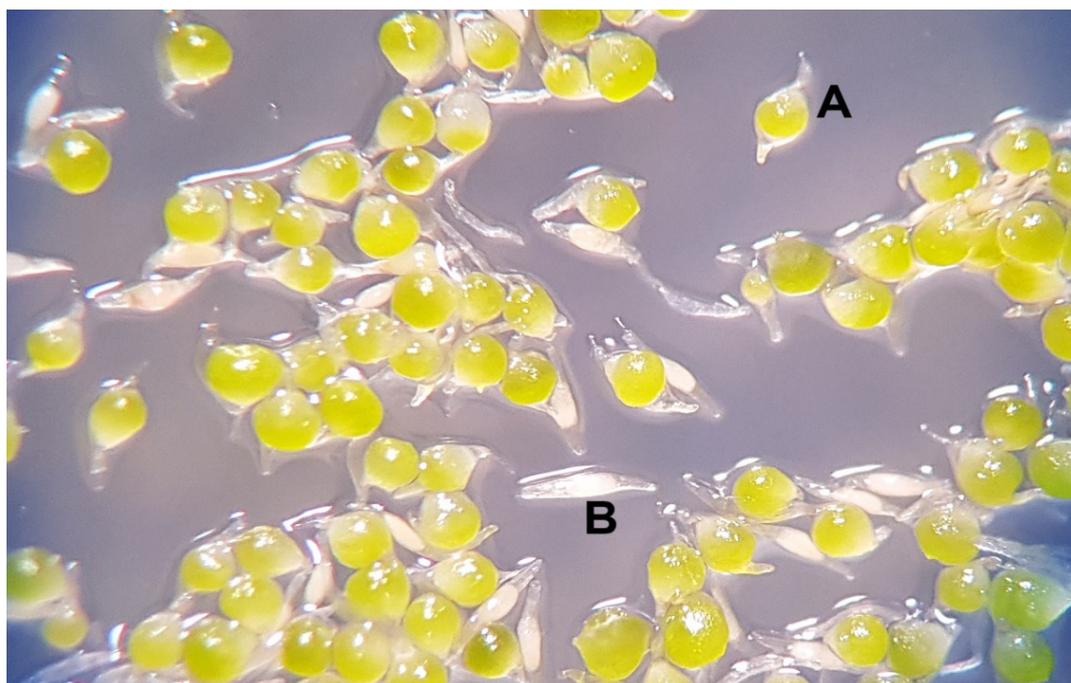
Os dados do experimento foram gerados através da contagem das sementes germinadas, para assim calcular a porcentagem de germinação (%G) e o índice de velocidade de germinação (IVG), de cada espécie. O IVG foi calculado utilizando a seguinte fórmula: $IVG = (N_1/G_1 + N_2/G_2 + \dots + N_n/G_n)$ sendo G1, G2 e Gn as sementes germinadas em cada período, e N é o número de dias de germinação (os intervalos entre as análises foram semanais até o fim da avaliação).

Uma semana após as placas de Petri serem levadas a sala de germinação, foram delimitados 3 campos circulares (10 mm de diâmetro) nas 3 placas de cada espécie, apresentado mais de 25 sementes, delimitações estas que ajudaram na contagem durante o acompanhamento da germinação.

Os registros das sementes e protocormos foram realizados através de câmera fotográfica de boa resolução, para visualização de todo o material germinado no campo, sendo a câmera acoplada manualmente à ocular de um estereomicroscópio. De acordo com o método de Seaton e Hailles (1989) foram

consideradas sementes germinadas, aquelas que apresentaram embriões de coloração verde, massa embrionária expandida, tendo rompido a testa (tegumento) da semente (Figura 10).

FIGURA 10 - Imagem de germinação de *C. lundii*. A – sementes germinadas, B - sementes não germinadas.



Fonte: Próprio autor.

4.5 Delineamento e análises estatísticas

Para análise estatística foi utilizado o delineamento do tipo fatorial 2x3 (temperatura x tempo de armazenamento), inteiramente casualizado, contendo dois tratamentos de temperatura e três repetições cada. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA, $p < 0,05$) e através do Sistema de Análise de Variância (SISVAR[®]) aplicou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação de médias (FERREIRA, 2011). Cada espécie foi avaliada separadamente nos testes iniciais em duas temperaturas (20°C e -18°C) e três tempos (0, 3 e 6 meses). Para a espécie *Galeandra beyrichii*, manteve-se fatorial duplo, portanto a análise foi feita separadamente quanto ao acondicionamento em luminosidade e escuridade.

5 RESULTADOS

5.1 Análises de germinação, teste de tetrazólio e IVG

Nos testes iniciais do experimento pode-se observar que as sementes de *Ctasm. fimbriatum* tiveram a germinação iniciada a partir da terceira semana, atingindo 95% de germinação ao fim da análise (Tabela 2). No teste de tetrazólio a viabilidade verificada foi de 100% (Figura 11).

Para as sementes de *C. lundii* foi observado 95% de germinação, alcançando 96% de viabilidade e, diferente das outras espécies do estudo, a germinação começou na primeira semana após semeadura.

As sementes de *Gal. beyrichii* que foram colocadas para germinar na luz, apresentaram baixo índice de germinação, em torno de 30%. Isso ocorreu provavelmente por serem sementes de orquídea saprófita e/ou possuir fotoblastismo neutro com maior sensibilidade à luz, uma vez que, diante do teste de tetrazólio foi obtido 95% de viabilidade. Entretanto, as sementes que foram acondicionadas no escuro apresentaram alta taxa de germinação, cerca de 99%.

Foi identificada 90% de germinação nas sementes de *Mcdn. paraensis*, com viabilidade alta, 94%.

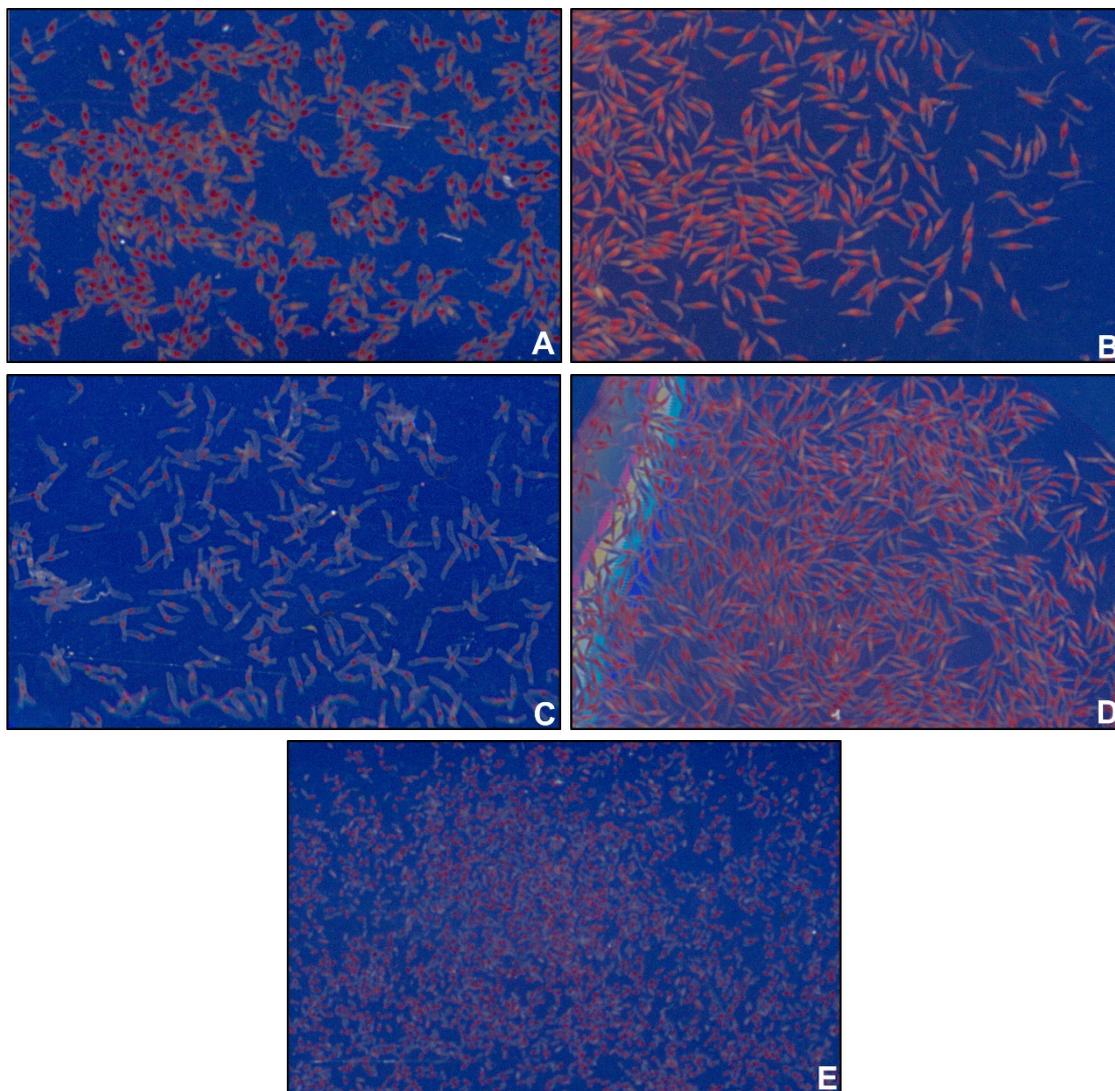
A espécie *Z. maxillare* foi a segunda que apresentou maior índice de viabilidade, com 97%, entretanto na fase inicial do experimento as sementes apresentaram baixa germinação, por volta de 26%.

TABELA 2 - Resultados dos testes iniciais de tetrazólio (TZ) e germinação (G).

Amostras	TZ (%) \pm DP*	G (%) \pm DP*
<i>Catasetum fimbriatum</i>	99,7 \pm 0,40	94,7 \pm 3,8
<i>Cattleya lundii</i>	96,2 \pm 2,89	95,2 \pm 2,7
<i>Galeandra beyrichii</i> (Luz)	94,8 \pm 1,26	29,9 \pm 7,4
<i>Galeandra beyrichii</i> (Escuro)	94,8 \pm 1,26	98,5 \pm 2,1
<i>Macradenia paraensis</i>	94,0 \pm 2,28	89,7 \pm 4,1
<i>Zigopetalum maxillare</i>	97,1 \pm 3,06	25,7 \pm 8,1

*DP desvio padrão da média amostral
Fonte: Próprio autor.

FIGURA 11 – Teste de tetrazólio para as sementes de *Ctsm. fimbriatum* (A), *C. lundii* (B), *Gal. beyrichii* (C), *Mcdn. paraensis* (D) e *Z. maxillare* (E) antes de serem armazenadas.



Fonte: Próprio autor.

5.1.1 *Catasetum fimbriatum*

A viabilidade das sementes de *Ctasm. fimbriatum* nos testes iniciais e nos primeiros meses de armazenamento permaneceu até os seis meses de armazenamento (Tabela 3). Após três meses de armazenamento a 20 °C, as sementes de *Ctasm. fimbriatum* apresentaram aumento na germinação após a terceira semana (Figura 12A), alcançando 6%. Na quarta semana (28 dias), os protocormos começaram a apresentar pêlos epidérmicos e, houve um pico de germinação, aumentando para 94% e se estabilizando entre a penúltima e a última semana da avaliação. Com seis meses de armazenamento não houve germinação; nos dois períodos de armazenamento a viabilidade foi de 100%.

As sementes de *Ctasm. fimbriatum* armazenadas a -18 °C, por três meses, também demonstraram germinação lenta durante as três primeiras semanas se aproximando de 10%. Entretanto, na quarta semana houve aumento neste parâmetro, ultrapassando 95% e, quase 100% nas duas últimas semanas (Figura 12B). A partir de seis meses os resultados foram de 29% de germinação a partir da terceira semana, mais de 90% na quarta semana e 100% no fim dos testes (Figura 13).

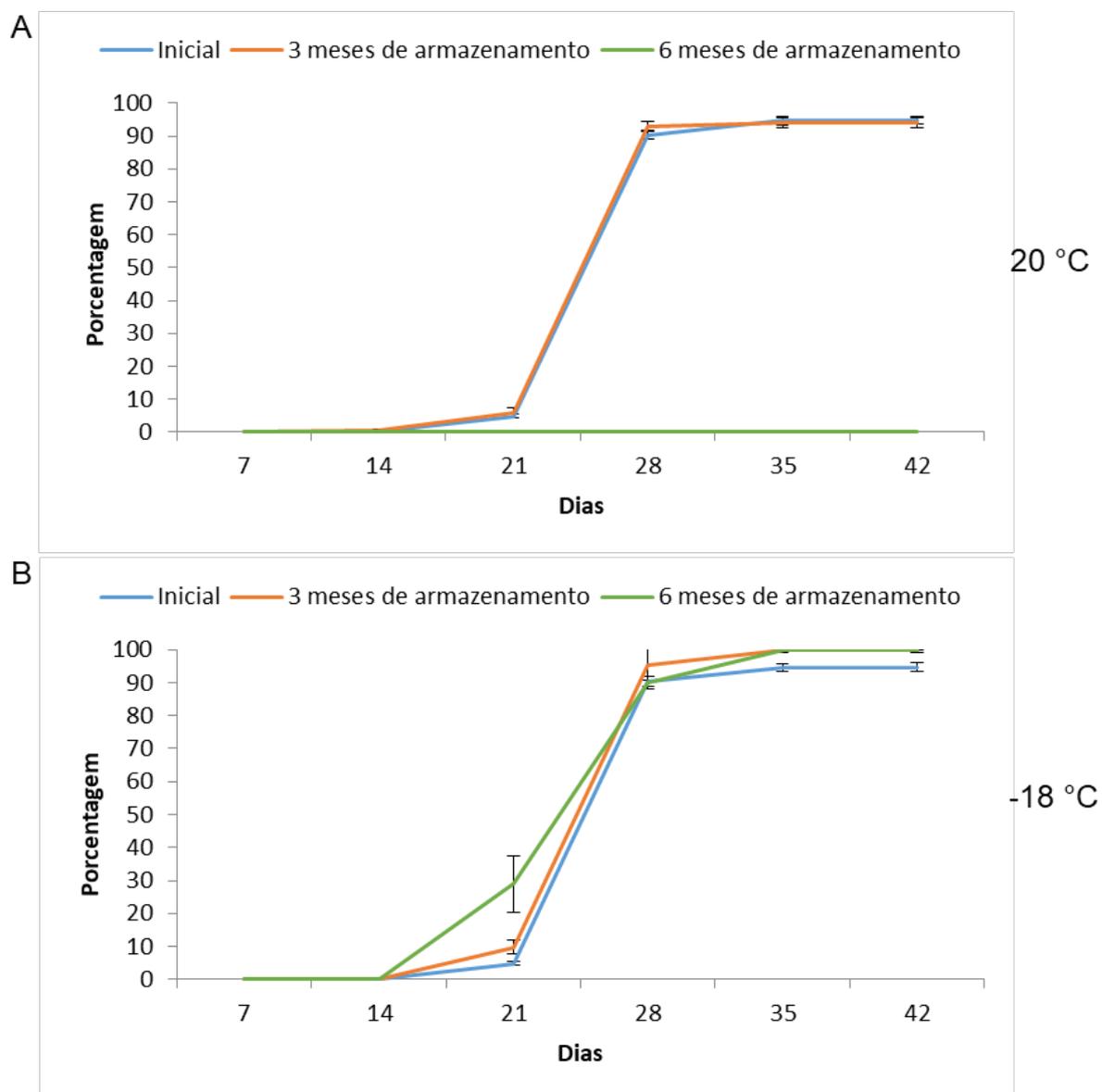
TABELA 3 – Teste de tetrazólio (%) aplicado às sementes de *Ctasm. fimbriatum*, antes e após o armazenamento sob diferentes temperaturas.

Tempo de armazenamento (meses)	Viabilidade das sementes (%) ± DP*	
	Temperatura de armazenamento (° C)	
	-18	20
0	99,7 ± 0,40	99,7 ± 0,40
3	100 ± 0	100 ± 0
6	100 ± 0	100 ± 0

*DP desvio padrão da média amostral

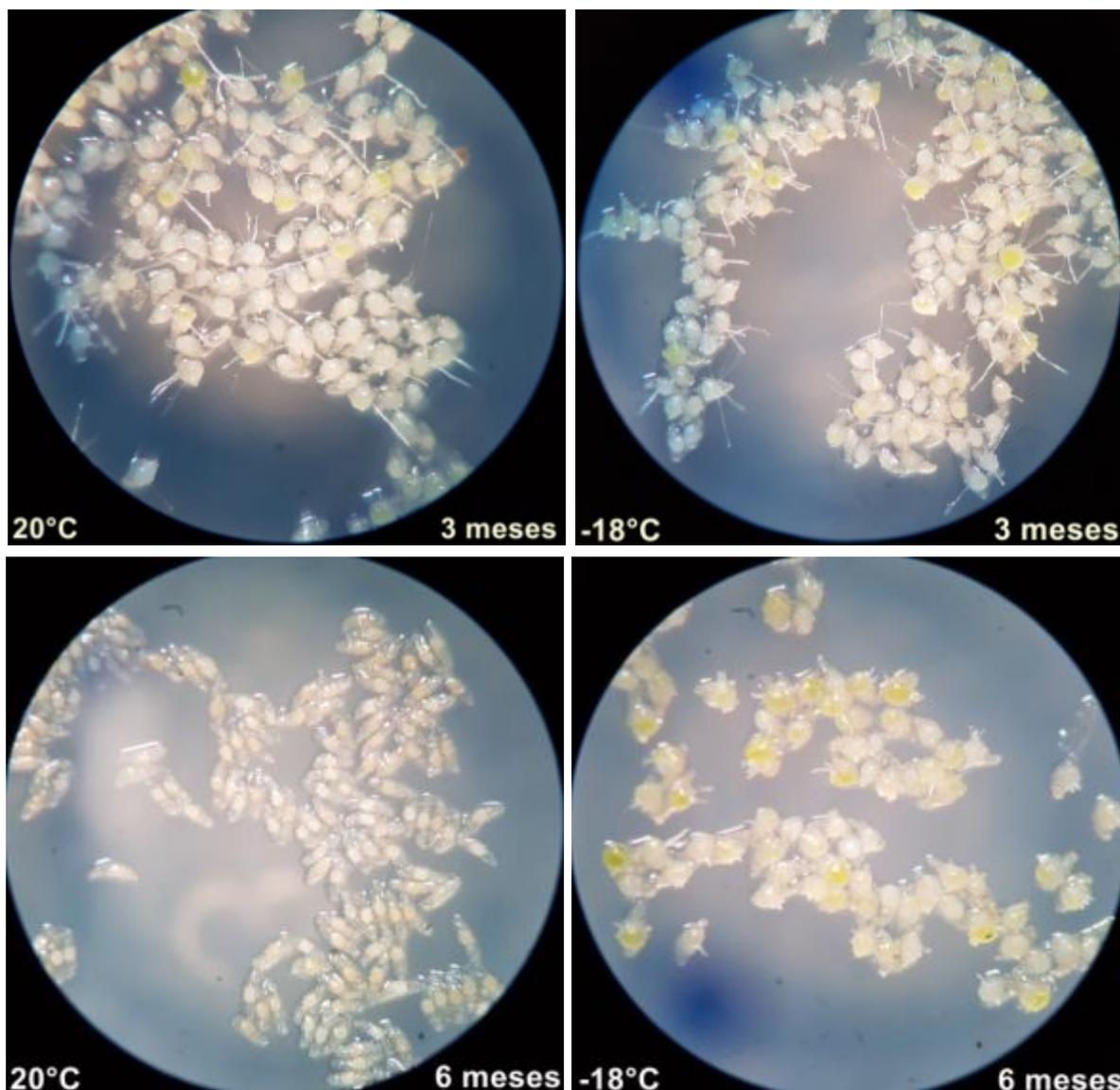
Fonte: Próprio autor.

FIGURA 12 - Germinação acumulada (%) de sementes de *Ctsm. fimbriatum*, acondicionadas a 6,4% de teor de água e armazenadas em duas condições, a 20 °C (A) e -18 °C (B), inicialmente e após três e seis meses de armazenamento.



Fonte: Próprio autor.

FIGURA 13 – Germinação final de sementes de *Ctasm. fimbriatum* em cultivo *in vitro*, acondicionadas nas temperaturas de 20 °C e -18 °C, no período de três e seis meses de armazenamento.



Fonte: Próprio autor.

Em *Ctsm. fimbriatum* não ocorreu interação significativa entre os tratamentos (condições de temperatura x tempo) na germinação inicial (14° dia), contudo, de acordo com a Tabela 4, a interação foi significativa na germinação final. Considerando o desdobramento da interação, os resultados do parâmetro “porcentagem de sementes armazenadas a -18 °C” demonstram que a germinação total, ao longo de seis meses, manteve altos níveis, acima de 90%. Entretanto, na temperatura de 20 °C os índices de germinação em torno de 90% declinam bruscamente a 0% aos seis meses.

O IVG foi semelhante na comparação das duas condições de temperatura até os três primeiros meses de avaliação, acima de 3%, no entanto, no sexto mês houve um declínio para menos de 1% na temperatura de freezer e 0% em temperatura ambiente.

TABELA 4 – Análise do desdobramento da germinação e índice de velocidade de germinação em *Ctsm. fimbriatum*.

Tempo de armazenamento (meses)	Temperatura de armazenamento (° C)	
	-18	20
	Germinação total (%)	
0	90,39bA	90,39aA
3	95,42aA	92,92aA
6	90,08bA	0,00bB
	IVG	
0	3,41bA	3,41bA
3	3,65aA	3,43bB
6	0,99cA	0,00aB

*Letras maiúsculas comparam condições de temperatura, e letras minúsculas o tempo de avaliação.
Fonte: Próprio autor.

5.1.2 *Cattleya lundii*

Em sementes de *C. lundii* armazenadas sob temperatura de 20 °C por três meses, foi possível observar que a espécie manteve alta taxa de viabilidade, registrando 96% e mais de 95% ao sexto mês (Tabela 5). As sementes armazenadas em temperatura de -18 °C durante três e seis meses, registraram viabilidade em torno de 95% e 92%, respectivamente. Houve um menor índice de germinação diante do teste inicial, em torno de 77% (Figura 14A), estabilizando-se desde a primeira semana. Posteriormente, aos seis meses, nos primeiros 7 dias a germinação foi mais lenta, prevalecendo em menos de 30%, alcançando mais de 50% na semana seguinte e estabilizando-se em aproximadamente 87% do 21° dia ao 42° dia (Figuras 14 e 15).

No armazenamento por três meses em temperatura de -18 °C, as sementes de *C. lundii* exibiram quase 80% de germinação na primeira semana e, 85% da segunda a última semana. Em seguida, com seis meses de armazenamento foi notada pouca queda na germinação, alcançando 82% (Figura14B).

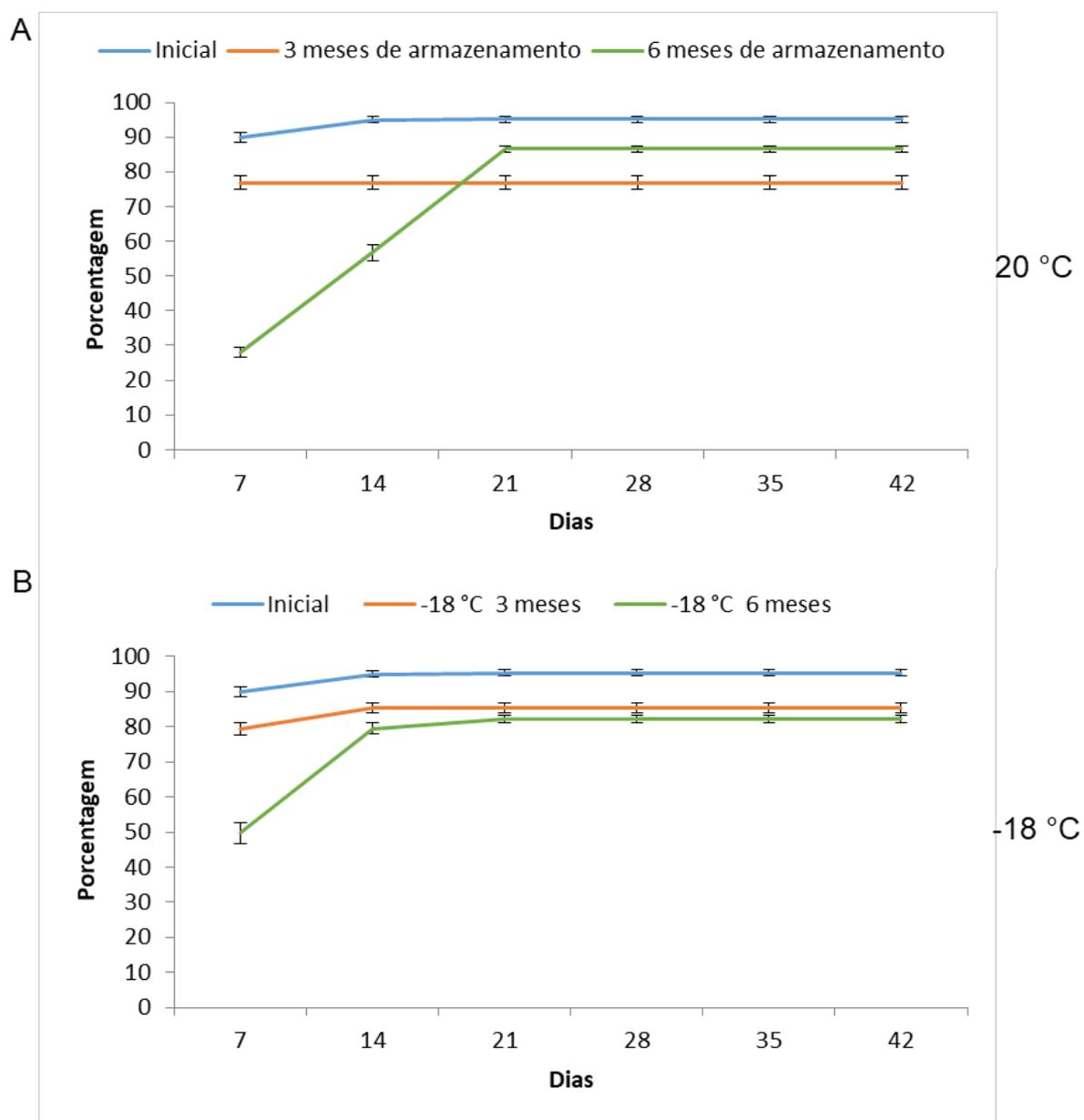
TABELA 5 – Teste de tetrazólio (%) aplicado às sementes de *C. lundii*, antes e após o armazenamento sob diferentes temperaturas.

Tempo de armazenamento (meses)	Viabilidade das sementes (%) ± DP*	
	Temperatura de armazenamento (° C)	
	-18	20
0	96,2 ± 2,89	96,2 ± 2,89
3	94,8 ± 2,97	96,3 ± 1,99
6	91,8 ± 2,65	95,7 ± 0,95

*DP desvio padrão da média amostral

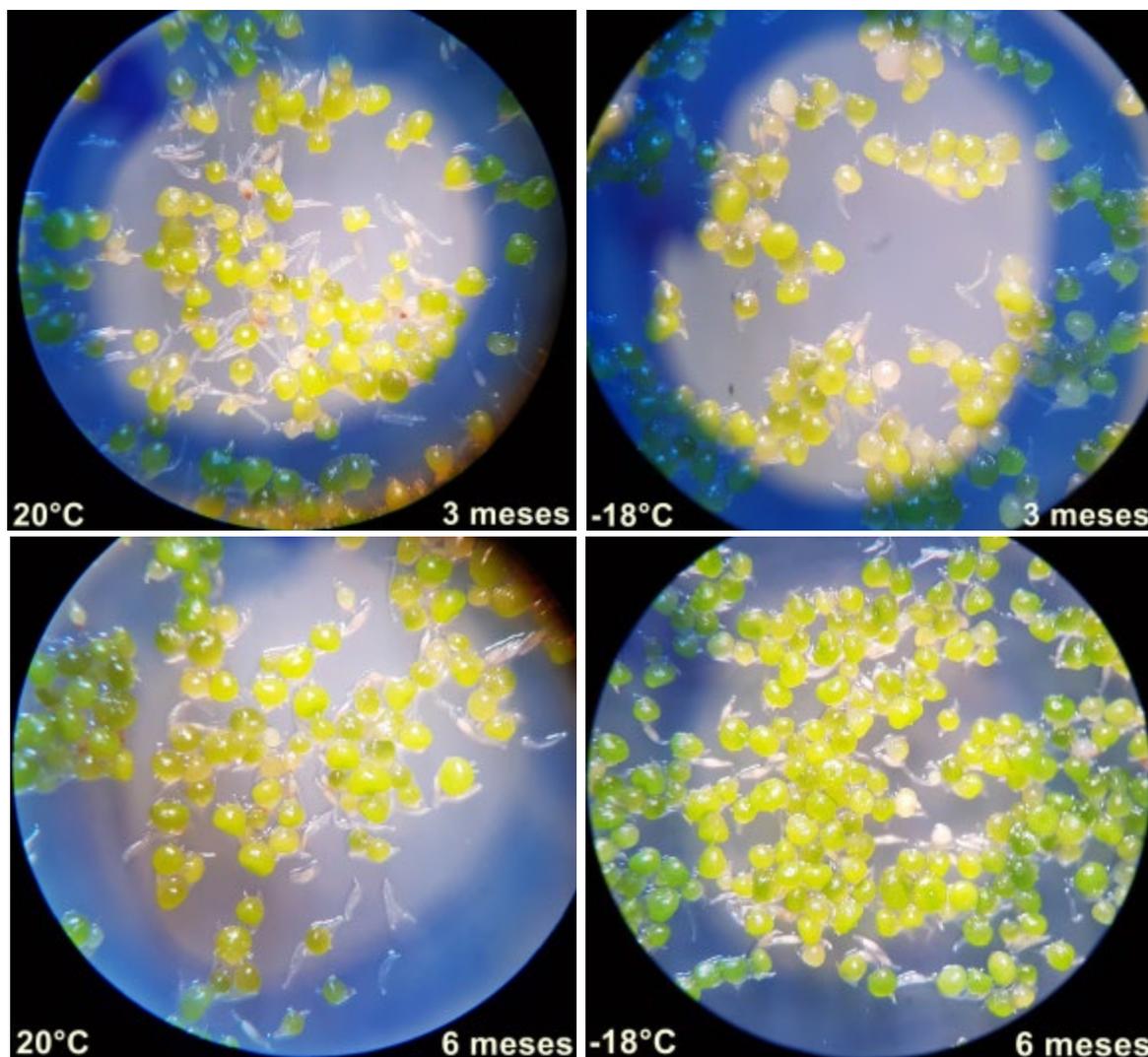
Fonte: Próprio autor.

FIGURA 14 – Germinação acumulada (%) de sementes de *C. lundii*, acondicionadas a 6,4% de teor de água e armazenadas em duas condições, a 20 °C (A) e -18 °C (B), inicialmente e após três e seis meses de armazenamento.



Fonte: Próprio autor.

FIGURA 15 - Germinação final de sementes de *C. lundii* em cultivo *in vitro*, acondicionadas nas temperaturas de 20 °C e -18 °C, no período de três e seis meses de armazenamento.



Fonte: Próprio autor.

As análises de germinação para *C. lundii* comprovam que houve diferenças entre as condições de temperatura na germinação total, a partir de três meses de armazenamento, porém foi aos seis meses que a germinação se manteve acima de 80% para ambas temperaturas, indicando que os melhores índices foram alcançados em 20 °C. Apesar da interação significativa no fim do tratamento, houve pouca diferença, menos de 5% (Tabela 6).

Em relação ao IVG, as sementes tendem a germinar mais lentamente quando mantidas a 20 °C (Figura 14A).

TABELA 6 – Análise do desdobramento da germinação e índice de velocidade de germinação em *C. lundii*.

Tempo de armazenamento (meses)	Temperatura de armazenamento (° C)	
	-18	20
	Germinação total (%)	
0	95,20aA	95,20aA
3	85,31bA	76,82cB
6	82,20bB	86,58bA
	IVG	
0	13,20aA	13,20aA
3	11,77bA	10,97bB
6	9,36cA	7,48cB

*Letras maiúsculas comparam condições de temperatura, e letras minúsculas o tempo de avaliação.
Fonte: Próprio autor.

5.1.3 *Galeandra beyrichii*

Para as sementes de *Gal. beyrichii* armazenadas a 20 °C, por três e seis meses sob iluminação, não houve germinação (Figuras 16A e 17), entretanto, a viabilidade durante os três meses estava em torno de 85%, declinando para 49% após seis meses de armazenamento (Tabela 7).

Ao diminuir a temperatura do ambiente para -18 °C as sementes de *Gal. beyrichii* armazenadas por três meses sob iluminação apresentaram índices baixos de germinação, iniciando as atividades no 35° dia com menos de 2%, se estabilizando entre 49-56 dias com um pouco mais de 8% (Figura 16B), mesmo com 94% de viabilidade. Após seis meses, além de não ocorrer germinação (Figura 17), a viabilidade decaiu para 59%.

Sementes de *Gal. beyrichii* mantidas em ambiente escuro e em temperatura de 20 °C por três e seis meses de armazenamento não germinaram (Figura 16C).

Após três meses de armazenamento a -18 °C, as sementes de *Gal. beyrichii* mantidas em ambiente escuro apresentaram maiores índices de germinação, comparada com as de ambiente iluminado (que foi de mais de 8%); alcançando 30% a partir do 35° dia, permanecendo assim até o fim da avaliação, aos 56° dia (Figuras 16D e 18). No final do período de seis meses ocorreu declínio, atingindo menos de 1%.

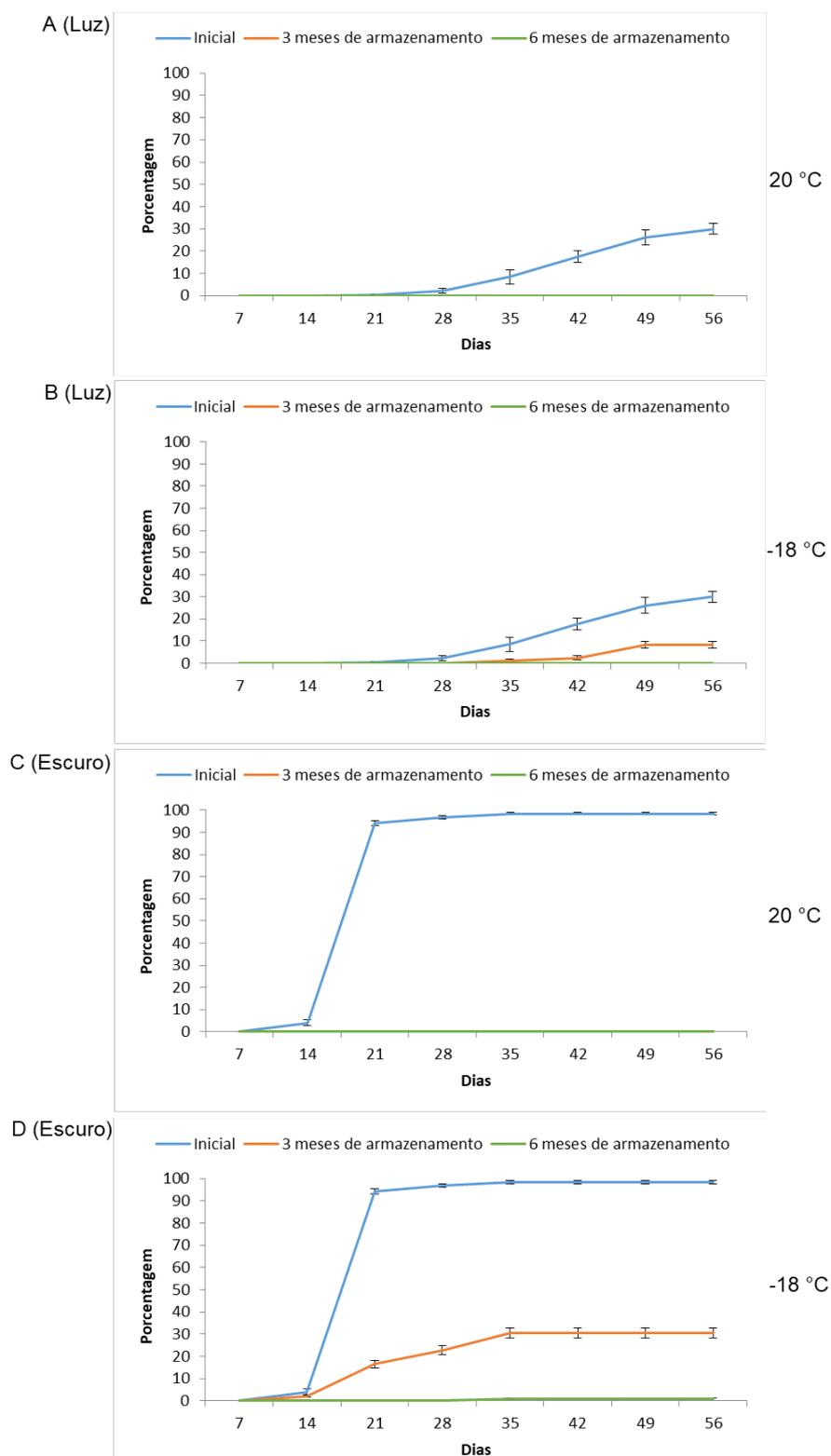
TABELA 7 – Teste de tetrazólio (%) aplicado às sementes de *Gal. beyrichii*, antes e após o armazenamento sob diferentes temperaturas.

Tempo de armazenamento (meses)	Viabilidade das sementes (%) \pm DP*	
	Condições de iluminação/Temperatura de armazenamento (°C)	
	Luz/Escuro	
	-18	20
0	94,8 \pm 1,26	94,8 \pm 1,26
3	93,9 \pm 3,40	85,0 \pm 9,80
6	59,2 \pm 8,26	49,4 \pm 20,8

*DP desvio padrão da média amostral

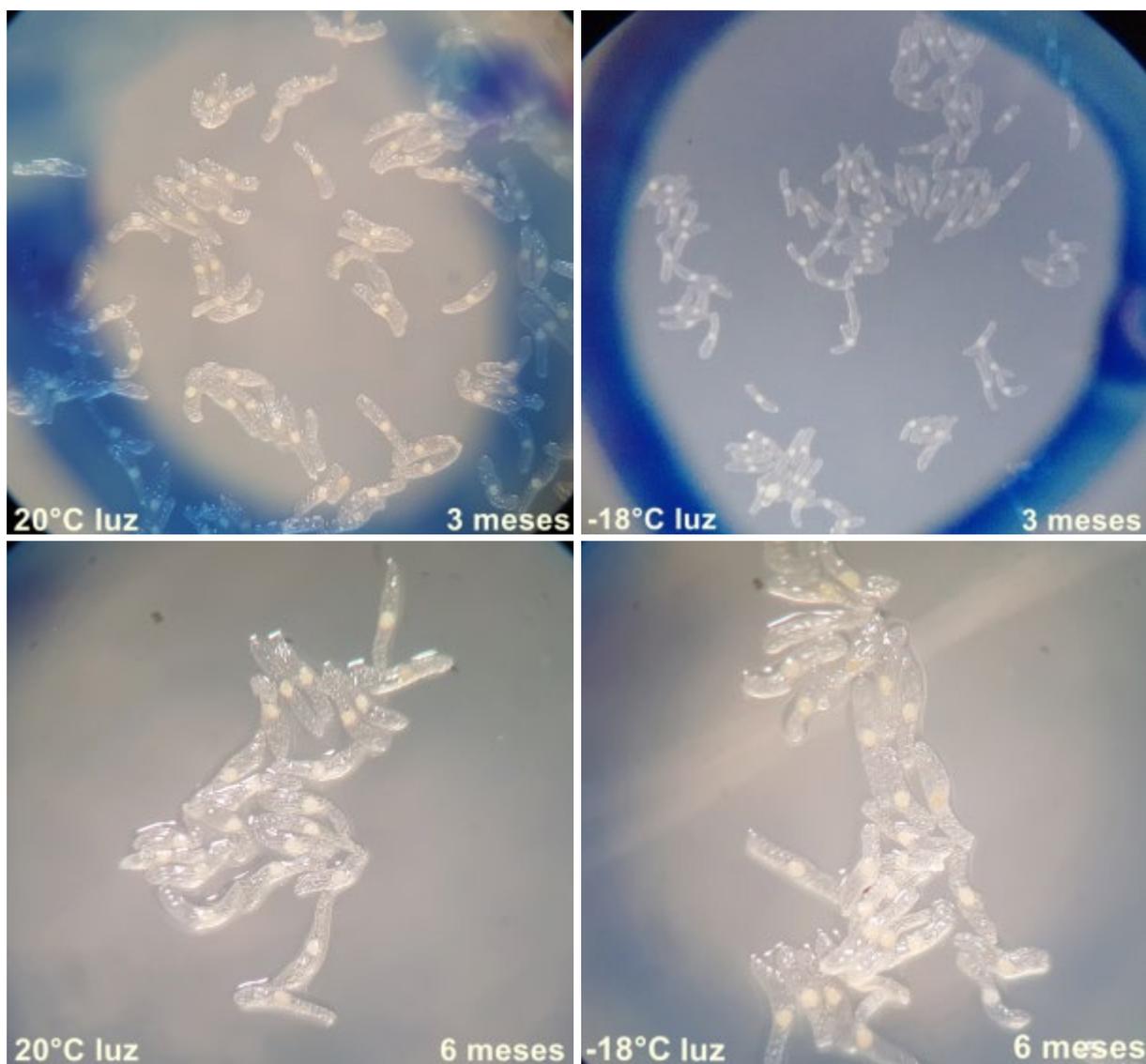
Fonte: Próprio autor.

FIGURA 16 - Germinação acumulada (%) de sementes de *Gal. beyrichii*, acondicionadas a 6,4% de teor de água e armazenadas em duas condições, a 20 °C (A (luz)), -18 °C (B (luz)) e 20 °C (C (escuro)) e, -18 °C (D (escuro)), inicialmente e após três e seis meses de armazenamento.



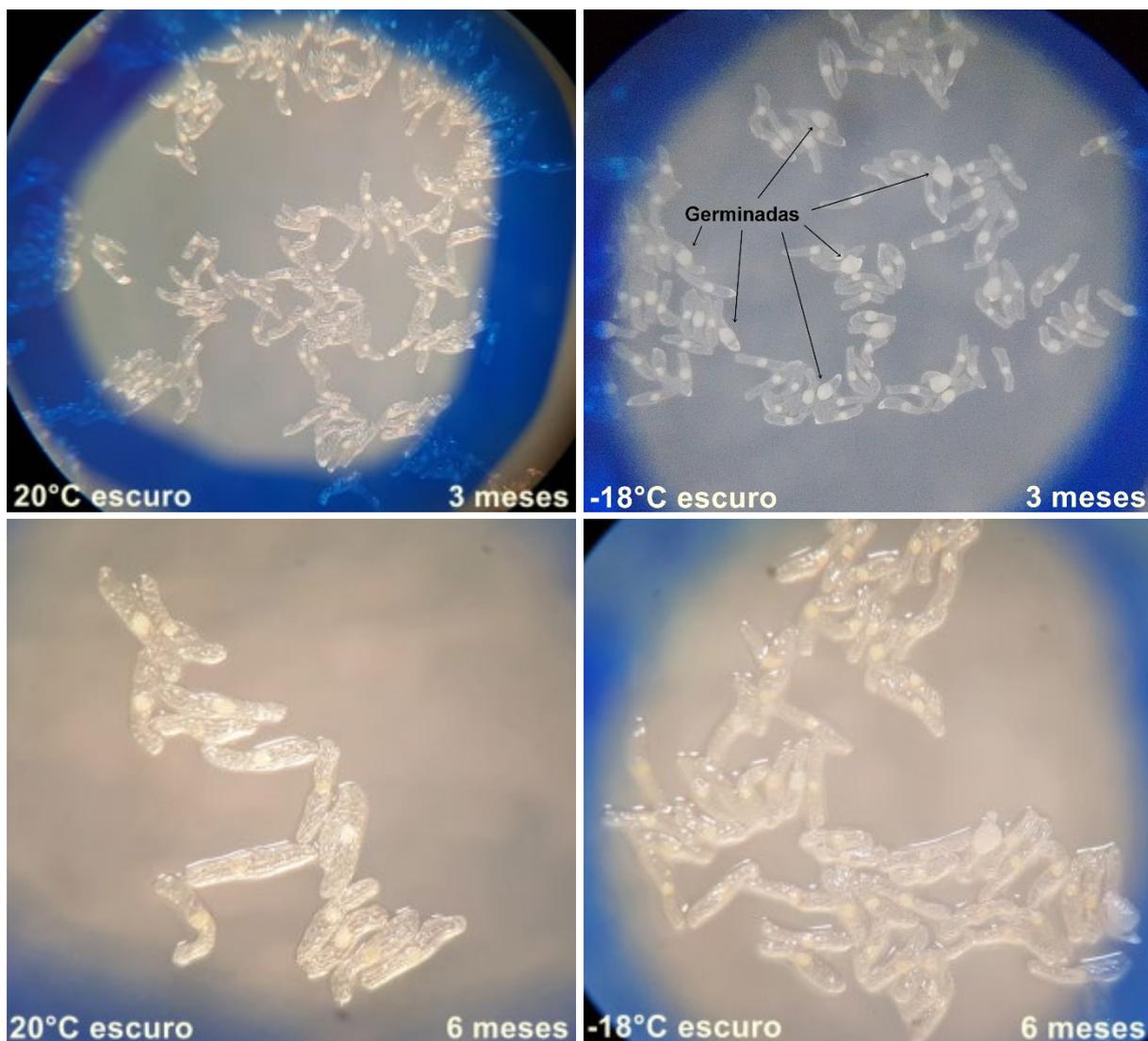
Fonte: Próprio autor.

FIGURA 17 - Germinação final de sementes de *Gal. beyrichii* em cultivo *in vitro*, acondicionadas nas temperaturas de 20 °C e -18 °C, no período de três e seis meses de armazenamento e em ambiente iluminado.



Fonte: Próprio autor.

FIGURA 18 - Germinação final de sementes de *Gal. beyrichii* em cultivo *in vitro*, acondicionadas nas temperaturas de 20 °C e -18 °C, no período de três e seis meses de armazenamento e em ambiente escuro.



Fonte: Próprio autor.

A Tabela 8 demonstra que para *Gal. beyrichii* houve interação significativa entre os períodos de avaliação, temperaturas diferentes e condições de luminosidade. Os resultados revelam que antes do armazenamento das sementes desta espécie, a germinação foi de aproximadamente 100% a 20 °C e -18 °C na condição de escuro; no entanto, sementes na condição de luminosidade apresentaram relativamente baixa porcentagem de germinação. Ao longo de seis meses a espécie perdeu viabilidade em ambas temperaturas. De acordo com IVG, pode-se observar que os melhores índices foram antes do armazenamento.

TABELA 8 – Análise do desdobramento da germinação e índice de velocidade de germinação em *Gal. beyrichii*.

Tempo de armazenamento (meses)	Condições de iluminação/Temperatura de armazenamento (°C)			
	Luz		Escuro	
	-18	20	-18	20
	Germinação total (%)			
0	29,91aB	29,91aB	98,47aA	98,47aA
3	8,26bB	0,00bA	30,40bA	0,00bA
6	0,00cA	0,00bA	0,65cA	0,00bA
	IVG (%)			
0	4,19aB	4,19aB	26,08aA	26,08aA
3	1,16bB	0,00bA	7,25bA	0,00bA
6	0,00cA	0,00bA	0,12cA	0,00bA

*Letras maiúsculas comparam condições de temperatura, e letras minúsculas o tempo de avaliação.
Fonte: Próprio autor.

5.1.4 *Macradenia paraensis*

De acordo com a Tabela 9, a viabilidade de sementes de *Mcdn. paraensis* mantidas sob a temperatura 20 °C por três meses alcançou 92%, mas aos seis meses de armazenamento ocorreu perda de viabilidade, correspondendo a quase de 70%. Sob a temperatura de -18 °C no decorrer de três e seis meses de armazenamento, verificou-se maior porcentagem de viabilidade, comparada aos testes iniciais, mantendo-se em aproximadamente 96%,

A germinação de *Mcdn. paraensis* sob a temperatura 20 °C por três meses apresentou incremento nos primeiros 14 dias com mais de 20% de germinação, aumentando para 53% no 21° dia e, mantendo-se estável do 28° dia a 42° dia com níveis acima de 55%. Entretanto, a germinação total não ultrapassou 60% (Figura 19A), demonstrando início de dormência das sementes nessa condição de temperatura. Com seis meses de armazenamento, o percentual de germinação das sementes atingiu menos de 2% entre a terceira e sexta semana (Figura 20).

TABELA 9 - Teste de tetrazólio (%) aplicado às sementes de *Mcdn. paraensis*, antes e após o armazenamento sob diferentes temperaturas.

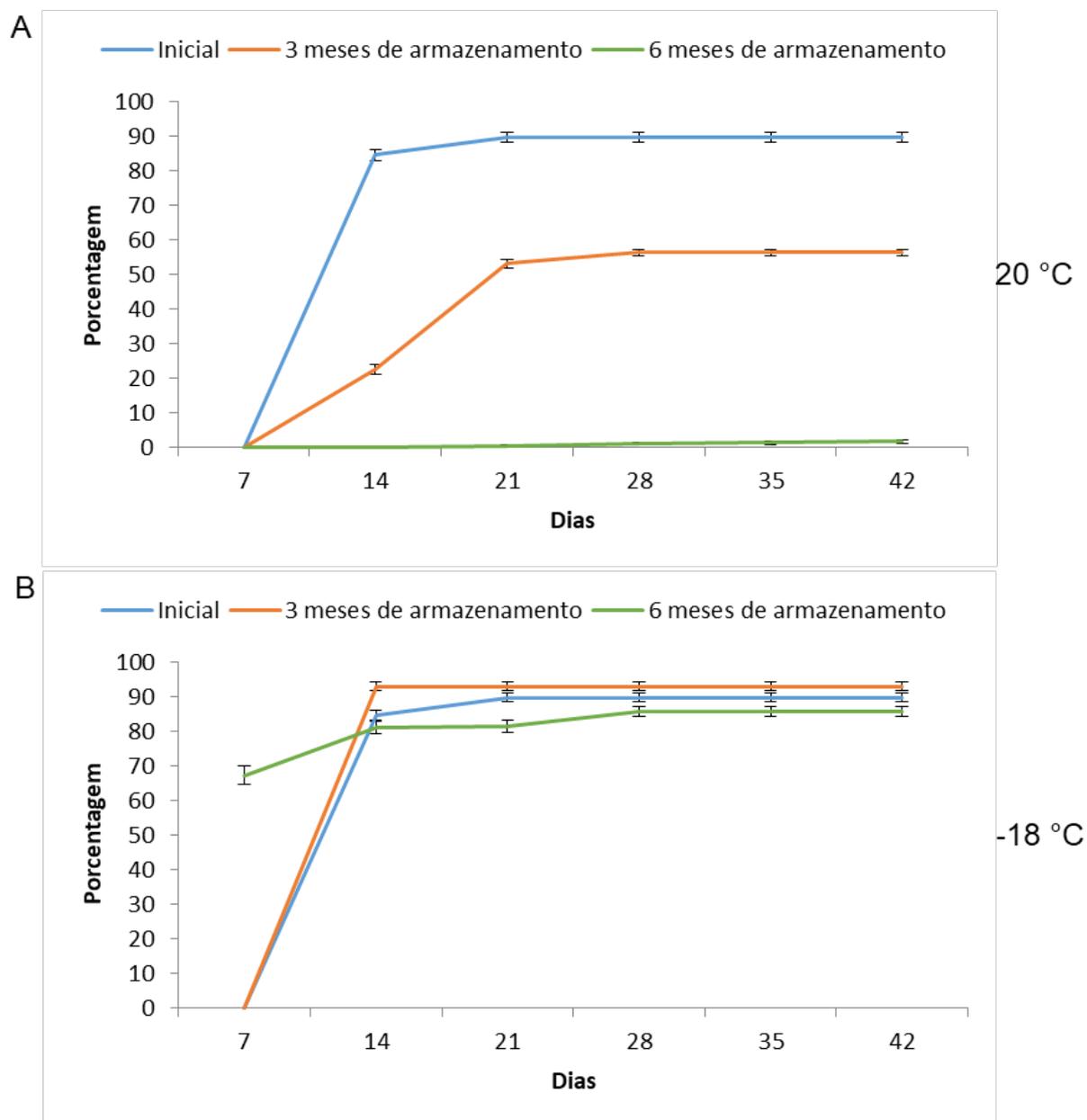
Tempo de armazenamento (meses)	Viabilidade das sementes (%) \pm DP*	
	Temperatura de armazenamento (° C)	
	-18	20
0	94,0 \pm 2,28	94,0 \pm 2,28
3	96,4 \pm 4,76	92,2 \pm 4,48
6	96,0 \pm 4,39	68,1 \pm 4,19

*DP desvio padrão da média amostral

Fonte: Próprio autor.

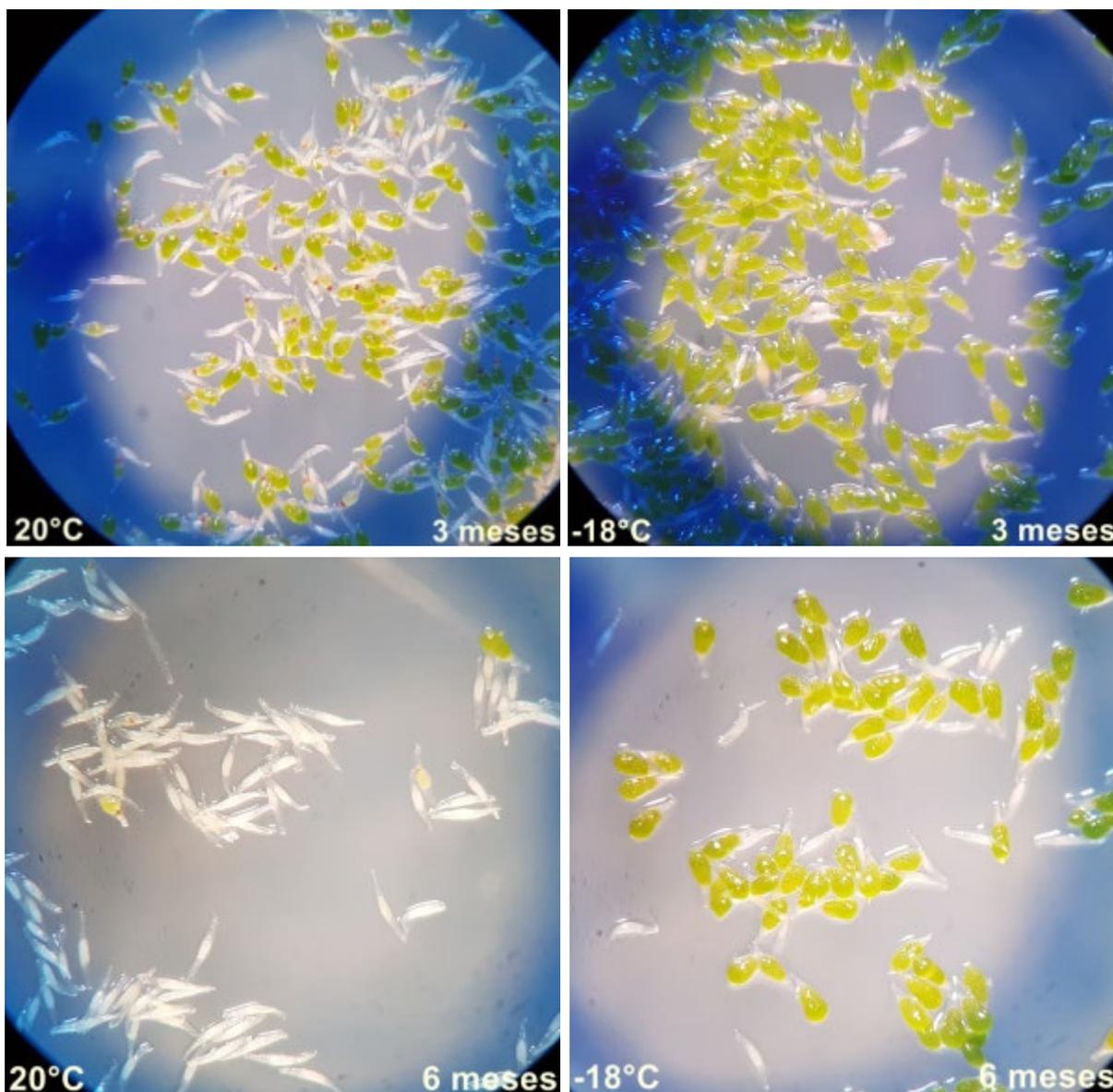
Avaliando o lote de sementes de *Mcdn. paraensis* armazenadas no decorrer de três meses em -18 °C, foi notado o aumento na germinação, alcançando nível máximo de 93%, a partir da segunda semana. Contudo, após seis meses a germinação caiu, se estabilizando em 86% desde a quarta semana, permanecendo com a mesma viabilidade do período de armazenamento anterior (Figura 19B).

FIGURA 19 - Germinação acumulada (%) de sementes de *Mcdn. paraensis*, acondicionadas a 6,4% de teor de água e armazenadas em duas condições, a 20 °C (A) e -18 °C (B), inicialmente e após três e seis meses de armazenamento.



Fonte: Próprio autor.

FIGURA 20 - Germinação final de sementes de *Mcdn. paraensis* em cultivo *in vitro*, acondicionadas nas temperaturas de 20 °C e -18 °C, no período de três e seis meses de armazenamento.



Fonte: Próprio autor.

Na Tabela 10 os dados de *Mcdn. paraensis* diferem estatisticamente entre as temperaturas, mostrando que apresentam decréscimo na capacidade de germinação em 20 °C aos 90° dia de armazenamento. Nesta condição, a germinação total no primeiro tempo da avaliação, expressa porcentagem de quase 90%, posteriormente declinando para 56% e na germinação final menor que 2%. No fim do tratamento de sementes armazenadas em -18 °C, a germinação foi superior a 85%.

TABELA 10 – Análise do desdobramento da germinação e índice de velocidade de germinação em *Mcdn. paraensis*.

Tempo de armazenamento (meses)	Temperatura de armazenamento (° C)	
	-18	20
	Germinação total (%)	
0	89,73abA	89,73aA
3	92,99aA	56,37bB
6	85,68bA	1,75cB
	IVG	
0	6,28bA	6,28aA
3	6,64bA	3,19bB
6	10,76aA	0,06cB

*Letras maiúsculas comparam condições de temperatura, e letras minúsculas o tempo de avaliação.
Fonte: Próprio autor.

5.1.5 *Zygopetalum maxillare*

Os resultados de tetrazólio da Tabela 11, demonstram que as sementes de *Z. maxillare* armazenadas durante três e seis meses em temperatura de 20 °C, teve acentuada queda da porcentagem de viabilidade, 49% e 37%, respectivamente. Contudo, as sementes armazenadas sob a temperatura de -18 °C por três meses de armazenamento, apresentaram porcentagens de 96% e quase 88 aos seis meses de armazenamento.

Quanto ao potencial germinativo de sementes acondicionadas na temperatura de 20 °C no decorrer de três e seis meses, não ocorreu germinação (Figura 21A). Ao longo de três meses, após armazenamento a -18 °C, foi possível observar o início da germinação a partir do 21º dia, estando acima de 15%, e alcançando 66% no fim da contagem; tal resultado indica que a retomada nas atividades fisiológicas e metabólicas continuaram lentas. Sob o armazenamento de seis meses, esta porcentagem aumentou para quase 89% no 42º dia (Figuras 21B e 22).

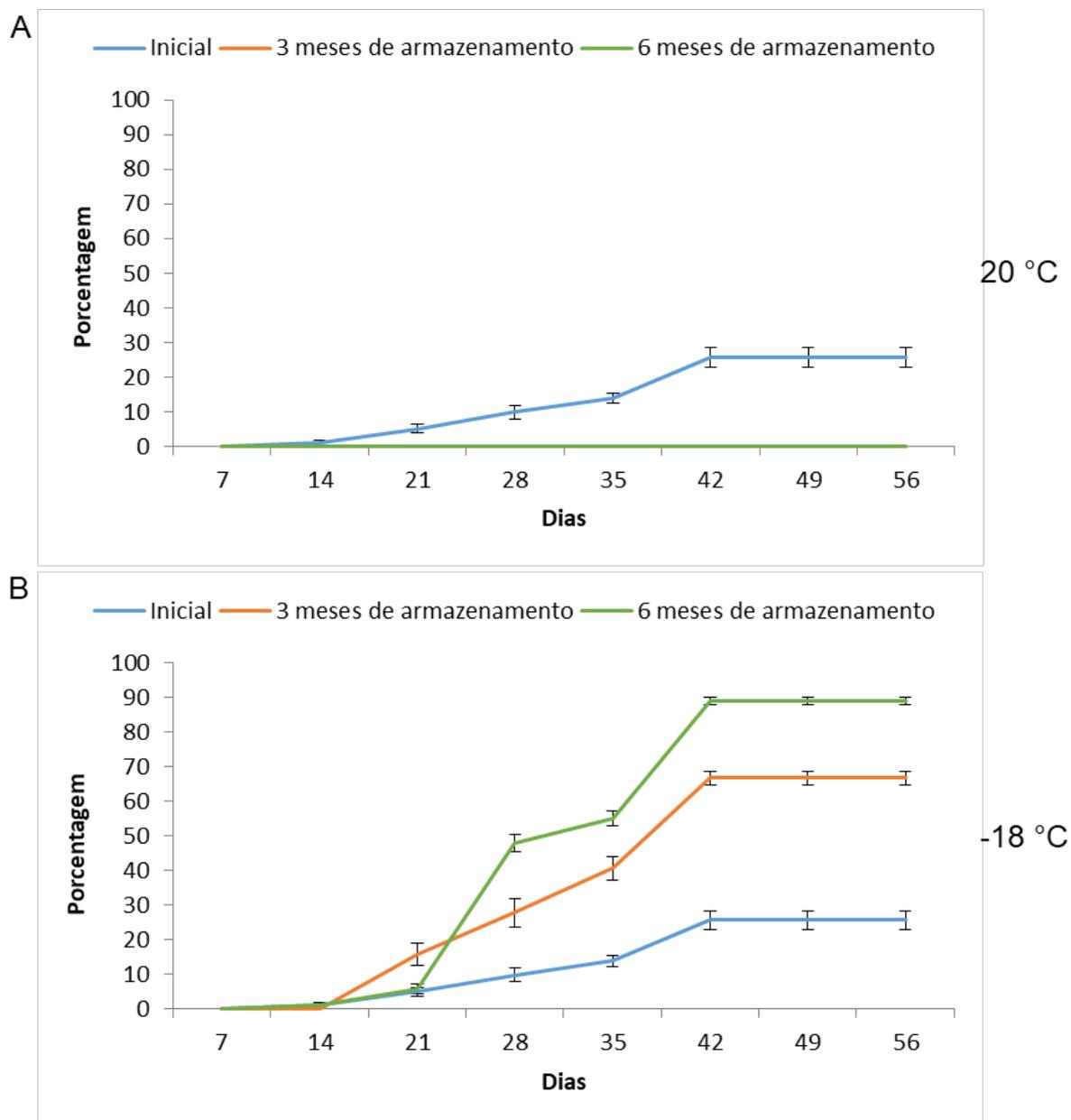
TABELA 11 – Teste de tetrazólio (%) aplicado às sementes de *Z. maxillare*, antes e após o armazenamento sob diferentes temperaturas.

Tempo de armazenamento (meses)	Viabilidade das sementes (%) \pm DP*	
	Temperatura de armazenamento (° C)	
	-18	20
0	97,1 \pm 3,06	97,1 \pm 3,06
3	96,0 \pm 1,89	48,6 \pm 8,44
6	87,9 \pm 5,46	37,3 \pm 3,74

*DP desvio padrão da média amostral

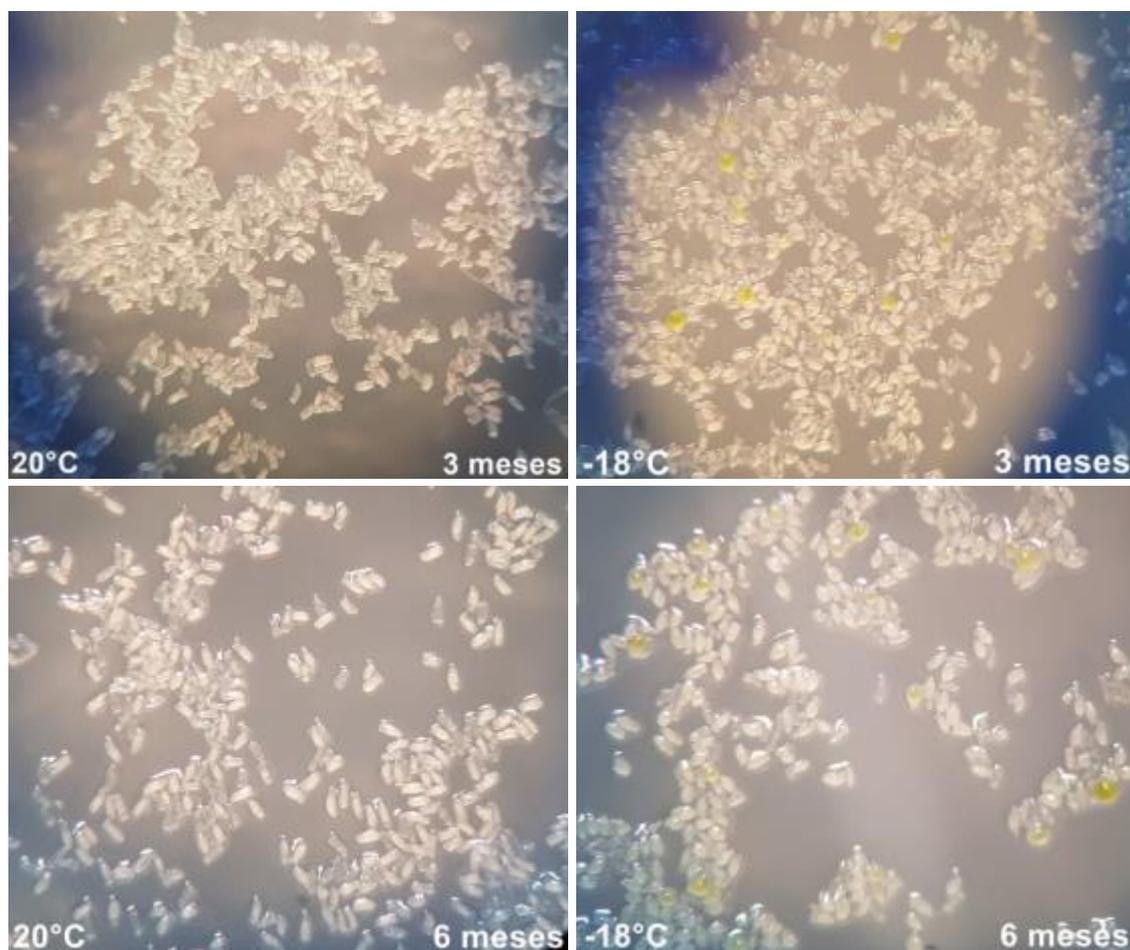
Fonte: Próprio autor.

FIGURA 21 - Germinação acumulada (%) de sementes de *Z. maxillare* acondicionadas a 6,4% de teor de água e armazenadas em duas condições, a 20 °C (A) e -18 °C (B), inicialmente e após três e seis meses de armazenamento.



Fonte: Próprio autor.

FIGURA 22 - Germinação final de sementes de *Z. maxillare* em cultivo *in vitro*, acondicionadas nas temperaturas de 20 °C e -18 °C, no período de três e seis meses de armazenamento.



Fonte: Próprio autor.

As análises das amostras de *Z. maxillare* (Tabela 12) demonstram que não houve interação significativa entre os tratamentos de condições de temperatura e período de armazenamento, na germinação inicial, porém essa significância foi observada na germinação. No primeiro período do experimento, a germinação foi baixa e igual para ambas temperaturas, cerca de 25%. Ao final de seis meses, as sementes armazenadas em 20 °C não apresentaram resultados, todavia, na temperatura de -18 °C gradativamente a germinação ascendeu para 66% com três meses, e aproximadamente 89% no fim do tratamento.

O IVG das sementes acondicionadas a -18 °C aumentou progressivamente no decorrer de seis meses, alcançando porcentagens superiores a 17%, diferentemente de 20 °C que apresentou resultados apenas no início/sem armazenamento, com aproximadamente 5%.

TABELA 12 – Análise do desdobramento da germinação e índice de velocidade de germinação em *Z. maxillare*.

Tempo de armazenamento (meses)	Temperatura de armazenamento (° C)	
	-18	20
	Germinação total (%)	
0	25,68cA	25,68aA
3	66,69bA	0,00bB
6	88,94aA	0,00bB
	IVG	
0	4,99cA	4,99aA
3	13,10bA	0,00bB
6	17,25aA	0,00bB

*Letras maiúsculas comparam condições de temperatura, e letras minúsculas o tempo de avaliação.
Fonte: Próprio autor.

6 DISCUSSÃO

A deterioração de sementes armazenadas em laboratório está estritamente relacionada a condições de temperatura, umidade relativa, bem como ao histórico genético da espécie e composição química; sendo esses os fatores que atuam no aumento ou diminuição da longevidade (DELOUCHE, 2002).

Neste contexto, quando as sementes começam a se deteriorar, conseqüentemente, ocorre a perda de viabilidade e do vigor, indicando alteração de metabolismo, visto que, alta umidade e temperatura ocasionam degradação da membrana celular, desnaturação de enzimas e proteínas ou danos genéticos (FILETI *et al.*, 2015).

Sementes de orquídeas em condições de temperatura e umidade controlada de armazenamento podem ter prolongadas a viabilidade e a capacidade de germinação de acordo com a espécie (MACHADO NETO; CUSTÓDIO, 2005b).

Segundo Pupim *et al.* (2009), sementes ortodoxas toleram a dessecação e temperaturas baixas, conservando-se por mais tempo, comparado com sementes recalcitrantes; e com espécies de orquídeas isso pôde ser comprovado através dos trabalhos de Hosomi *et al.* (2017), em que sementes de espécies do gênero *Cattleya* demonstraram a manutenção da viabilidade após armazenamento a -18° C por três meses.

Nos experimentos do presente trabalho pode-se observar que a germinação inicial (logo após a coleta dos frutos e retirada das sementes) de *Ctsm. fimbriatum*, *C. lundii*, *Gal. beyrichii* e *Mcdn. paraensis* apresentaram alta porcentagem de germinação e alta viabilidade, entretanto *Z. maxillare* apresentou baixa germinação, mesmo com viabilidade de aproximadamente 100%. Esta demora na retomada do metabolismo de *Z. maxillare*, pode ter sido causada por dormência fisiológica, conforme proposto por Bewley *et al.*, (2013).

Após três meses de armazenamento a 20 °C, os resultados das análises apontaram que a viabilidade de *Z. maxillare* diminuiu e não apresentou germinação, possivelmente indicando processo de deterioração. A espécie *Gal. beyrichii* não apresentou germinação sob iluminação do tipo fluorescente, nem tampouco no escuro, mesmo com viabilidade alta.

No trabalho de Takaki (2001) encontra-se a categorização de sementes segundo a percepção luminosa, sendo: sementes com potencial germinativo em luz

(sementes fotoblásticas positivas), as que germinam no escuro (fotoblásticas negativas) e as cuja germinação ocorre nas duas condições (fotoblásticas neutras). Diante disso, possivelmente *Gal. beyrichii* é fotoblástica neutra, mas acredita-se que a intensidade luminosa incidida sobre as sementes desta espécie terrícola pode ter ocasionado a baixa ou nenhuma germinação. A porcentagem de germinação mais baixa no decorrer do experimento, pode caracterizar processo de deterioração das sementes (FILETI *et al.*, 2015).

Comparando as espécies *Ctsm. fimbriatum*, *C. lundii* e *Mcdn. paraensis* mantiveram bons índices de viabilidade após três meses de armazenamento, e as duas primeiras, boa porcentagem de germinação. Contudo, o potencial germinativo de *Mcdn. paraensis* foi o mais afetado no armazenamento a 20 °C, mas manteve bons índices de germinação ao ser armazenado em temperatura negativa. As melhores condições para a conservação de sementes desta espécie, é mantê-las em -18 °C, da mesma forma para *Z. maxillare*.

As outras espécies mantiveram bons índices de germinação, e devido a *Z. maxillare* apresentar aproximadamente 89% de germinação a -18 °C após seis meses, isso pode indicar uma possível quebra de dormência nas sementes, assim como ocorreu nas espécies *Cattleya tenuis*, *C. mossiae* e *C. granulosa* do experimento de Hosomi *et al.* (2012). Independente dos tipos de dormência de sementes que existem em diversas espécies, sua função é reduzir o metabolismo germinativo para aumentar a longevidade das sementes (CALVI *et al.*, 2016).

De acordo com esses dados, há um indicativo de que a condição de temperatura 20 °C não favoreceu a conservação dessas espécies no fim do experimento, com exceção de *C. lundii*. Todavia, durante o armazenamento a -18 °C as espécies demonstraram boa porcentagem de germinação e de viabilidade, exceto *Gal. beyrichii*.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho cumpriu o objetivo proposto, a qual, foi avaliar a germinação e a viabilidade de sementes de espécies de orquídeas tropicais nativas do Oeste Paulista. Contudo, ainda que os resultados do experimento foram satisfatórios, recomenda-se novos testes em diferentes condições de temperatura, teor de água de sementes e meios de cultura, para analisar possíveis mudanças de comportamento das espécies.

Afim de obter bons comparativos, sugere-se complementar o experimento com teores de água nas sementes acima e abaixo de 6,4%; outras temperaturas de acondicionamento, exemplo, 5 °C (geladeira) 25 °C (sala que mantém temperatura estável) ou -196 °C (nitrogênio líquido), bem como distintos meios de culturas, tais quais, MS (Murashige & Skoog) com adição de polpa de banana, KC (Knudson C) e VW (Vacin & Went).

Quanto ao método utilizado para as leituras semanais das repetições do experimento com *Gal. beyrichii* no escuro, sugere-se utilizar a luz verde para a realização dos registros fotográficos. A espécie por ser terrícola, pode ter tido alteração da proteína fitocromo, influenciada pelo estímulo luminoso do flash de luz da câmera fotográfica.

8 CONCLUSÃO

As sementes de *Catasetum fimbriatum* manteve porcentagem de viabilidade alta nas duas condições de temperatura até o fim do experimento, contudo, não ocorreu germinação ao sexto mês de armazenamento em temperatura de 20 °C.

Para as sementes de *Cattleya lundii* a porcentagem de viabilidade permaneceu alta durante todo o experimento e nas duas condições de temperaturas estudadas. Foi a espécie que apresentou maior porcentagem de germinação ao fim de seis meses em temperatura de 20 °C.

Galeandra beyrichii apresenta sementes sensíveis à luz, germinando melhor em ambiente escuro.

O armazenamento de sementes em -18 °C melhorou a viabilidade de *Macradenia paraensis*. A espécie alcançou baixa germinação ao fim de seis meses de armazenamento em 20 °C.

As sementes de *Zygopetalum maxillare* apresentaram dormência no início dos testes a -18 °C e perda de viabilidade em 20 °C.

O melhor ambiente de armazenamento para a conservação das espécies estudadas, foi a temperatura de -18 °C para sementes com 6,4% de teor de água.

Conforme os dados apresentados neste estudo, se propõe a classificação de sementes ortodoxas de vida curta para as espécies de orquídeas utilizadas nos experimentos.

REFERÊNCIAS

- ARDITTI, J. *et al.* **Orchid seed germination and seedling culture: a manual.** 1982. p.244-370.
- BARRETO, D. W.; PARENTE, J. P. Chemical properties and biological activity of a polysaccharide from *Cyrtopodium cardiochilum*. **Carbohydr Polymer**, v.64, p.287-291, 2006.
- BARROS, F. *et al.* Orchidaceae in **Lista de espécies da flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB179>. Acesso em: 20 Ago. 2017.
- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. A classification system for seed dormancy. **Seed Science Research**, v.14, n.1, p.1-16, 2004.
- BEWLEY, J. D. *et al.* **Seeds: physiology of development, germination and dormancy.** Nova York: Springer, 2013. p.392.
- BRAGA, T. B. S.; MONTEIRO, S, H, N.; SMIDT, E. C. O gênero *Galeandra* (Orchidaceae: Catasetinae) no estado do Paraná, Brasil. **Rodriguésia**, v.66, n.1, p.221-227, 2015.
- BRAINER, M. S. C. P. Quando nem tudo são flores, a floricultura pode ser uma alternativa. **Caderno Setorial ETENE**, n.42, 2018.
- BRITO, A. L. V. T. **Orquídeas da Chapada Diamantina.** Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 2005. p.399.
- CALVI, G.P. *et al.* Analyses of several seed viability markers in individual recalcitrant seeds of *Eugenia stipitata* McVaugh with totipotent germination. **Plant Biology**, v.19, n.1, p.6-13, 2016.
- CAMERON, K. M. A comparison and combination of plastid atpB and rbcL gene sequences for inferring phylogenetic relationships within Orchidaceae. **Aliso**, v.22, n.1, p.447-464, 2006.
- CARDOSO, V. J. M. Conceito e classificação da dormência em sementes. **Oecologia Brasiliensis**, v.13, n.4, p.619-631, 2009.
- CERVI, F.; MENDONÇA, E.A.F. Adequação do teste de tetrazólio para sementes de algodoeiro. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.1, p.177-186, 2009.
- CHEN, Y. *et al.* Dendronone, a new phenanthrenequinone from *Dendrobium cariniferum*. **Food Chemistry**, v.111, p.11-12, 2008.
- DELOUCHE, J. C. Germinação, deterioração e vigor da semente. **Seed News**, v.6, n.6, p.24-31, 2002.

DIVAKARAN, M.; BABU, K. N.; PETER, K. V. Conservation of *Vanilla* species, *in vitro*. **Scientia Horticulturae**, v.110, n.2, p.175-180, 2006.

ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. **Journal of Experimental of Botany**, v.41, n.230, p.1167-1174, 1990.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.323.

FERREIRA, A. W. C. **Fenologia da *Catasetum fimbriatum* (Morren) Lindl. (Catasetinae, Orchidaceae) e sua polinização por abelhas Euglossini (Hymenoptera, Apidae) na região de São Carlos-SP, Brasil**. 2005. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) - UFSP- Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2005.

FERREIRA, A. W. C. **Orchidaceae nativas da região Central de São Paulo, Brasil: florística, interação com forófitos, proposta de novas espécies e propagação *in vitro* de uma espécie ameaçada de extinção**. 2009. Tese (Doutorado em Ciências) – UFSCar – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.

FERREIRA, A. W. C.; LIMA, M. I. S.; PANSARIN, E. R. Orchidaceae na Região Central de São Paulo, Brasil. **Rodriguésia**, v. 61, n. 2, p. 243-259, 2010.

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

FILETI, J. F. **Deterioração controlada em sementes de orquídeas**. 2015. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – UNOESTE – Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2015.

FILETI, J. F.; HOSOMI, S.T.; CUSTODIO, C. C.; MACHADO-NETO, N. B. Teste de deterioração controlada em sementes de quatro espécies de orquídeas para avaliação do comportamento fisiológico. **Colloquium Agrariae**, v.11, n.2, p.32-37, 2015.

FLORA DO BRASIL 2020 under construction. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available at: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB11329>. Accessed in: 01 Jul. 2019.

GOVAERTS, R. *et al.* **'World Checklist of Orchidaceae'**. Kew: The Royal Botanic Gardens. 2016.

GRZYBOWSKI, C.R.S.; OHLSON, R. C. S.; PANOBIANCO, M. Viability of barley seeds by the tetrazolium test. **Revista Brasileira de Sementes**, v.34, n.1, p.47-54, 2012.

HARRINGTON, J.F. Seed storage and longevity. In: KOZLOWSKI, T.T. **Seed biology: insects, seed collection, storage, testing and certification**, v.3. New York: Academic Press, 1972. Cap. 3, p.145-245.

HAY, F. R. *et al.* The use of non-saturated lithium chloride solutions for experimental control of seed water content. **Seed Science and Technology**, v.36, p.737-746, 2008.

HENGLING, M. M. **Armazenamento de sementes de orquídeas em diferentes condições de temperatura e umidade**. 2015. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – UNOESTE – Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2015.

HONG, T.D.; ELLIS, R.H. **A protocol to determine seed storage behaviour**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1996. p.55.

HOSOMI, S. T. *et al.* Refining the tetrazolium test for evaluation of *Cattleya labiata* and *C. tigrina* seeds viability. **Australian Journal of Crop Science**, v.11, p.1320-1326, 2017.

HOSOMI, S.T. *et al.* Improved assessment of viability and germination of *Cattleya* (Orchidaceae) seeds following storage. **In Vitro Cellular & Developmental Biology**, v.48, n.1, p.127-136, 2012.

HOSOMI, S.T. *et al.* Pre-conditioning *Cattleya* seeds to improve the efficacy of the tetrazolium test for viability. **Seed Science Technology**, v.39, n.1, p.178-189, 2011.

IUCN. **IUCN red list categories and criteria**: version 3.1. 2. ed. Gland: IUCN, 2012. 32p.

LAZAROTTO, M. *et al.* Adequação do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Ceiba speciosa*. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, n.4, p.1243-1250, 2011.

MACHADO NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C. A medium for non-commercial sowing of orchid seed. **Selbyana**, v.26, n.1-2, p.316-317, 2005a.

MACHADO NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C. Orchid conservation through seed banking: ins and outs. **Selbyana**, v.26, p.229-235, 2005b.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p.495.

MARCOS FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, v.72, n.4, p.363-374, 2015.

MARTINS, D.C. *et al.* Qualidade fisiológica de sementes de café provenientes de diferentes níveis de radiação solar e estádios de maturação. In: VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 7. **Anais [...]**. Araxá - MG, 22 a 25 de agosto de 2011.

MELLO, A. C. F.; PANTOJA, S. C. S. Orquídeas no paisagismo da área urbana de Ipanema – RJ. **Revista Eletrônica Novo Enfoque**, v.18, n.18, p.87–108, 2014.

- MEI *et al.* Response to temperature stress of reactive oxygen species scavenging enzymes in the cross-tolerance of barley seed germination. **Journal of Zhejiang University SCIENCE B - Biomedicine & Biotechnology**, v.11, n.12, p.965-972, 2010.
- MINAMBIENTE. **Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de la República de Colombia**, 2015. Disponível em: <http://www.minambiente.gov.co/>. Acesso em: 23 Ago. 2017
- 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.
- NETO, L. M. *et al.* Orchidaceae do Parque Estadual de Ibitipoca, MG, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.21, n.3, p.687-696, 2007.
- NODARI, R. O. *et al.* Conservação de frutos e sementes de palmito (*Euterpe edulis* Mart) sob diferentes condições de armazenamento. **Revista Árvore**, v.22, n.1, p.1-10, 1998.
- PABST, G. F.J; DUNGS, F. **Orchidaceae Brasiliensis**. Hildesheim: Brucke verlag Kurt Schmiersow, 1975. v.1, p.408.
- PEREIRA, O. L.; ROLLEMBERG, C.L.; KASUYA, M.C.M. **Association des mycorhizies dans les orchidees** – perspectives d'utilisation dans les programmes de propagation symbiotique. **Orchidees**, n.55, p.24-27, 2003.
- PIÑA-RODRIGUES, F. C.; FIGLIOLIA, M. B.; PEIXOTO, M. C. Teste de qualidade. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação** – do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.283-297.
- PINHEIRO, L. R. *et al.* Genetic diversity and population structure in the Brazilian *Cattleya labiata* (Orchidaceae) using RAPD and ISSR markers. **Plant Systematics and Evolution**, v.12, p.1815-1825, 2012.
- POINAR, G.; RASMUSSEN, F. N. Orchids from the past, with a new species in Baltic amber. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.183, n.3, p.327-333, 2017.
- PRIDGEON, A. M. *et al.* **Genera Orchidacearum**. Oxford: Oxford University Press, 2009. v.5, p.585.
- PUPIM, T. L. *et al.* Conservação de sementes de *Magnolia ovata* St. Hil. **Revista Brasileira Sementes**, n.3, p.96-105, 2009.
- RAMÍREZ, S. R. *et al.* Dating the origin of the Orchidaceae from a fossil orchid with its pollinator. **Nature**, n.448, p.1042-1045, 2007.
- RASMUSSEN, H. N. Recent developments in the study of orchid mycorrhiza. **Plant Soil**, n.244, p.149-163, 2002.
- ROYAL HORTICULTURAL SOCIETY. 2019. Disponível em: <https://www.rhs.org.uk>.

ROBERTS, D. L.; DIXON, K. W. Orchids. **Current Biology**, v.18, p.325-329, 2008.

ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science Technology**, v.1, n.4, p.499-514, 1973.

ROMANINI, R, P. **A família Orchidaceae no Parque Estadual da Ilha do Cardoso, Cananéia, SP**. 2006. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) - Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, 2006.

SEATON, P. T.; HAILES, N. S. J. Effect of temperature and moisture content on viability of *Cattleya aurantiaca* seed. In: PRITCHARD, H. W. (Ed). **Modern methods in orchid conservation: the role of physiology, ecology and management**. Cambridge: University Press, 1989. p.17-29.

SEATON, P.T; PRITCHARD, H.W. Life in the freezer. **Orchids**, v.77, n.10, p.762-773, 2008.

SINGH, F. Differential staining of orchid seeds for viability testing. **American Orchid Society Bulletin**, v.50, p.416-18, 1981.

SPECIESLINK. **Sistema de Informação Distribuído para Coleções Biológicas: a integração do Species Analyst e do SinBiota (FAPESP)**. 2017. Disponível em: <http://www.splink.org.br/>. Acesso em: 18 Dez. 2017.

STANCATO, G. C.; BEMELMANS, P. F.; VEGRO, C. L. R. Produção de mudas de orquídeas a partir de sementes *in vitro* e sua viabilidade econômica: estudo de caso. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.7, n.1, p.25-33, 2001.

TAKAKI, M. New proposal of classification of seeds based on forms of phytochrome instead of photoblastism. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, n.1, p.104-108, 2001.

TAKANE, R. J.; YANAGISAWA, S. S. **Cultivo moderno de orquídeas: Phalaenopsis**. São Paulo: Cantareira, 2007. 130p

THE PLANT LIST. Versão 1.1. 2013. Disponível em: <http://www.theplantlist.org/>. Acesso em: 30 Jul. 2019.

ULLOA, C.U. *et al.* An integrated assessment of the vascular plant species of the Americas. **Science**, v.358, p.1614-1617, 2017.

VAN DEN BERG, C. New combinations in the genus *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae). **Neodiversity**, n.3, p.3-12, 2008.

VASCONCELOS, J. M. *et al.* Métodos de superação de dormência em sementes de croada (*Mouriri elliptica* Mart). **Ciência e Agrotecnologia**, v.34, n. 5, p.1199-1204, 2010.

WALTERS, C.; HILL, L.M.; WHEELER, L.J. Dying while dry: kinetics and mechanisms of deterioration in desiccated organisms. **Integrative and Comparative Biology**, v.45, p.751-758, 2005.

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.

YU, Q.; RENGEL, Z. Micronutrient deficiency in influences plant growth and activities of superoxide dismutases in narrow-leaved lupins. **Annals Botanicals**, v.83, p.175-182, 1999.