

LEANDRO DILL

ECOLOGIA DE *Cattleya coccinea* (LINDL.) RCHB. F. E *Coppensia ranifera* (LINDL.) F. BARROS & V.T. RODRIGUES (ORCHIDACEAE) EM FRAGMENTOS DE FLORESTA OMBRÓFILA MISTA E PROPAGAÇÃO IN VITRO DE *Coppensia ranifera*

Dissertação apresentado ao Curso de Pós-graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador:

Prof. Dr. Adelar Mantovani

**LAGES, SC
2016**

Dill, Leandro

ECOLOGIA DE *Cattleya coccinea* (LINDL.) RCHB.F. E
Coppensia ranifera (LINDL.) F. BARROS & V.T. RODRIGUES
(ORCHIDACEAE) EM FRAGMENTOS DE FLORESTA OMBRÓFILA
MISTA E PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE *Coppensia ranifera* /
Leandro Dill. Lages - 2016. 124 P.

Orientador: Adelar Mantovani

Co-orientador: Roseli Lopes da Costa Bortoluzzi
Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado
de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Produção Vegetal, Lages, 2016.

1. Distribuição espacial. 2. Orquídea epífita. 3.
Orchidaceae. 4. Semelhante a protocormo. 5.
micropropagação. I. Mantovani, Adelar. II. Lopes da
Costa Bortoluzzi, Roseli,. III. Universidade do
Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Produção Vegetal. IV. Título.

Ficha catalográfica elaborada pelo autor, com auxílio do
programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC

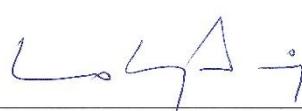
LEANDRO DILL

Ecologia de *Cattleya coccinea* (Lindl.) Rchb.F. e *Coppensia ranifera* (Lindl.) F. Barros & V. T. Rodrigues (Orchidaceae) em fragmentos de floresta ombrófila mista e Propagação *in vitro* de *Coppensia ranifera*.

Dissertação apresentado ao Curso de Pós-graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Produção Vegetal.

Banca examinadora

Orientador: 
(Prof. Dr. Adelar Mantovani)
CAV/UDESC

Membro: 
(Prof. Dr. Lirio Luiz Dal Vesco)
Campus Curitibanos/UFSC

Membro: 
(Dr. Tássio Dresch Rech)
EPAGRI/LAGES

**LAGES SC
2016**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus.

Aos meus pais, Luiz e Janete os quais me deram a vida e toda minha família, e minhas irmãs pela amizade.

A minha namorada Vânia, de maneira especial, que me deu muito amor e carinho estando pacientemente comigo nos últimos três anos da minha vida, assim como seus familiares que nunca deixaram de acreditar em mim.

Aos amigos os quais conquistei durante o percurso de minha vida e aos momentos de descontração concedidos por eles, que são fundamentais.

Ao amigo orientador, Adelar Mantovani principalmente por sempre acreditar em mim e também a amiga e co-orientadora Roseli Lopes da Costa Bortoluzzi.

Grupo de Pesquisa de “Uso e Conservação dos Recursos Florestais” bem como o “pessoal” do Laboratório Genética, que sempre proporcionaram apoio, alegria e companheirismo.

Também o pessoal do Laboratório de Biotecnologia e genética da UFSC-Curitibanos, pelo auxílio nos trabalhos.

E ao professor Paulo Cesar Poeta Fermino Junior, pela colaboração em parte deste trabalho.

Aos colegas e amigos professores especialmente Adelar, Roseli, Paulo e Lírio que estiveram mais próximos nesta etapa, contribuindo não só na minha formação acadêmica, mas também na formação do meu caráter profissional.

Para não correr o risco de cometer injustiça, agradeço aqueles que passaram pela minha vida e contribuíram de alguma forma.

De coração! Muito obrigado a todos!

RESUMO

Cattleya coccinea e *Coppensia ranifera* são orquídeas epífitas, que possuem potencial ornamental. Entender como se dá o comportamento dessas espécies em ambientes de sua ocorrência, juntamente com pesquisa de cultivo *in vitro* é fundamental para construção de planos sólidos para o uso e conservação dos recursos naturais. Avaliou-se a ocorrência de *C. coccinea* em três parcelas na unidade de conservação Complexo Serra da Farofa, em Urupema, SC; e de *C. ranifera* em um fragmento de floresta de uma propriedade particular, em Brunópolis, SC. Foram analisadas as frequências de orquídeas em estratos verticais, aos pontos cadeias (norte, sul, leste e oeste) e correlação com a altura e diâmetro. Na micropropagação de *C. ranifera* foram utilizados protocormos germinados *in vitro* seccionados longitudinalmente (2 mm) em meio Knudson C líquido estacionário e gelificado, suplementado com thidiazuron (TDZ) (0, 1, 2, 4 e 8 μ M) para a indução de estruturas semelhantes a protocormos (ESP). Para a regeneração de plântulas foi utilizado meio de cultura isento de fitorreguladores. Para *C. coccinea* foram registradas 1398 orquídeas, distribuídas em 258 forófitos. *Drimys angustifolia* correspondeu a 65,1% dos forófitos e sustentou 72,2% das orquídeas. O Fuste Médio dos forófitos concentrou 68,7%, e a face Norte abrigou 40,0% das orquídeas. A correlação positiva para a altura do forófito ($r=0,93$) e classes Diamétricas ($r=0,95$) em função da frequência de orquídeas, onde centro de classe 7,6m obteve 32% das orquídeas e forófitos; e o centro de classe 13,4cm obteve 30% das orquídeas e forófitos. Para *C. ranifera* foram analisadas as frequências de orquídeas em estratos verticais, nas posições cadeias, e correlação com a altura e diâmetro. Foram amostrados 473 indivíduos de *C. ranifera*, distribuídas em 72 forófitos. *Lamanonia ternata* registrou 34,7% dos forófitos e abrigou 42,5% das orquídeas. O Fuste

Médio dos forófitos concentraram 54,8% e a face Norte 40,6% orquídeas. Foi verificado a correlação positiva para a altura do forófito ($r=0,25$) e negativa para classes Diamétricas ($r= - 0,88$) em função da frequência de orquídeas, onde centro de classe 14,4m obteve 17% das orquídeas e dos forófitos; o centro de classe 17,5cm obteve 20% das orquídeas e forófitos. A formação de ESP ocorre por via direta, sem calo. A utilização de meio de cultura líquido é mais eficiente do que o meio gelificado com relação ao número de ESP formado por explante. Em meio líquido de cultura o maior percentual de formação e o maior número de ESP por explante ocorre com a adição de 4 μM de TDZ. Estabeleceu-se um método eficiente de propagação *in vitro* para *C. ranifera*, utilizando a técnica de camada fina celular (TCL), a eficiência (percentual de conversão) na regeneração de plântula em meio gelificado é maior do que em meio líquido. Os dados indicam a capacidade de colonização e a importância de ações de conservação das espécies de orquídeas.

Palavras-chave: Distribuição Espacial. Forófito. Orchidaceae. Orquídea Epífita. Micropropagação. Estrutura Semelhante a Protocormo.

ABSTRACT

DILL, Leandro. Ecology of *Cattleya coccinea* (Lindl.) Rchb. F. and *Coppensia ranifera* (Lindl.) F. Barros & T. V. Rodrigues (Orchidaceae) in Mixed Ombrophilous Forest Fragments and Propagation in vitro *Coppensia ranifera*. 2016, 124 p. Dissertation (Masters in Plant Production – Area: Breeding and Genetic Resources). Santa Catarina State University. Graduate Program in Plant Production, Lages, 2016.

Cattleya coccinea and *Coppensia ranifera* are epiphytic orchids, which have ornamental potential. Understanding how is the behavior of those species on their performance environments, along with in vitro culture of research is fundamental to building solid plans for the use and conservation of natural resources. We evaluated the occurrence of *C. coccinea* in three installments in the conservation unit complex Serra da Farofa in Urupema, SC; and *C. ranifera* in a forest fragment of a particular property in Brunópolis, SC. the frequencies of orchids were analyzed in vertical strata, the points chains (north, south, east and west) and correlation with height and diameter. In micropropagation *C. ranifera* protocorms we were used germinated *in vitro* longitudinally sectioned (2 mm) in medium Knudson C stationary and gelled liquid, supplemented with thidiazuron (TDZ) (0, 1, 2, 4 and 8 uM) to induce protocorm-like structures (ESP). For regeneration of plantlets was used in medium lacking growth regulators culture. For *C. coccinea* were recorded in 1398 orchids distributed in 258 phorophytes. *Drimys angustifolia* corresponded to 65.1% of phorophytes and held 72.2% of orchids. The Middle Fuste of phorophytes concentrated 68.7%, and the North face took 40.0% of orchids. The positive correlation to the height of phorophyte ($r = 0.93$) and diameter classes ($r = 0.95$) depending on the frequency of orchids, where

7.6 m center class obtained 32% of orchids and phorophytes; and 13.4cm class center obtained 30% of orchids and phorophytes. C. To ranifera frequencies of orchids were analyzed in vertical layers, positions in the chains, and correlation with height and diameter. They sampled 473 individuals of *C. ranifera* distributed in 72 phorophytes. *Lamanonia ternata* recorded 34.7% of phorophytes and took 42.5% of orchids. The Middle Fuste of phorophytes concentrated 54.8% and 40.6% north face orchids. Positive correlation was found to the height of phorophyte ($r = 0.25$) and negative for diametric classes ($r = -0.88$) depending on the frequency of orchids, where 14.4m center class obtained 17% of orchids and of phorophytes; the 17.5cm class center obtained 20% of orchids and phorophytes. The ESP formation occurs by direct route, without callus. The use of the liquid culture medium is more efficient than the medium gelled with respect to the number of ESP formed per explant. In liquid culture medium the highest percentage of formation and more ESP per explant occurs with the addition of 4 uM TDZ. It was established an efficient method for in vitro propagation *C. ranifera*, using thin layer technique cell (TCL), the efficiency (conversion percentage) in plantlet regeneration gelled media is higher than in the liquid medium. The data indicate colonization capacity and the importance of conservation actions of orchid species.

Key-words: Spatial Distribution. Phorophyte. Orchidaceae. Epiphytic Prchid. Micropropagation. Like Structure Protocormo.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - <i>Cattleya coccinea</i> . A: planta adulta em tamanho natural. B: planta com detalhes das flores. Barras A e B 5 cm.....	36
Figura 2 - <i>Coppensia ranifera</i> . A: planta em tamanho natural. B: detalhe da inflorescência com flores aberta. Barras: A e B 5 cm.	38
 CAPÍTULO I	
Figura 1 - Mapa mostrando a localização da área de estudo RPPNE Complexo Serra da Farofa entre os municípios de Painel, Bocaina do Sul Rio Rufino e Urupema (SC) - Floresta Ombrófila Mista Altomontana, SC, 2012.	59
Fórmula 1- Fórmula matemática utilizada para transformação de circunferência a altura do peito (CAP) em diâmetro a altura do peito (DAP), $\pi = 3,1416$	60
Figura 2 - Esquema didático da divisão do forófito adaptado por Kersten & Kuniyoshi (2009) a partir de Braun-Blanquet (1979), modificado para atender as características da Floresta Atlântica. Sendo assim dividido 1: Fuste Inferior (FI) (solo até 1,30 m), 2: Fuste intermediário (FIn), 3: Fuste superior (FS) (da base da copa até 1,30 m antes da copa), 4: Copa interna (CI) e 5: Copa externa (CE).....	61
Figura 3 - Frequência relativa de alturas dos forófitos e distribuição de <i>C. coccinea</i> em relação ao centro de classes de alturas.....	69
Figura 4 - Frequência relativa de DAP dos forófitos e distribuição de <i>C. coccinea</i> em relação ao centro de Classes dos DAP.....	70

CAPÍTULO II

Figura 1 - Mapa mostrando a localização da área de estudo, uma Propriedade particular, que está situada no município de Brunópolis (SC) localizado no Planalto Catarinense - Floresta Ombrófila Mista, SC, (Brasil, 2010).....	84
Fórmula 1 - Fórmula matemática utilizada para transformação de circunferência a altura do peito (CAP) para diâmetro a altura do peito (DAP), onde $\pi = 3,1416$	85
Figura 2 - Esquema didático da divisão do forófito adaptado por Kersten & Kuniyoshi (2009) a partir de Braun-Blanquet (1979), modificado para atender as características da Floresta Atlântica. Sendo assim dividido 1: Fuste Inferior (FI) (solo até 1,30 m), 2: Fuste intermediário (FIn), 3: Fuste superior (FS) (da base da copa até 1,30 m antes da copa), 4: Copa interna (CI) e 5: Copa externa (CE).....	86
Figura 3 - Frequência relativa de alturas dos forófitos e distribuição de <i>C. ranifera</i> em relação ao centro das Classes de Alturas em metros	92
Figura 4 - Frequência relativa de DAP dos forófitos e distribuição de <i>C. ranifera</i> em relação aos Centros de Classes de DAP em cm.....	94

CAPÍTULO III

Figura 1 - <i>Coppensia ranifera</i> . A. Indivíduo adulto em área natural com cápsulas maduras. B. Protocormos germinados <i>in vitro</i> utilizados como fonte de explante através da técnica TCL (linha tracejada). Barra: A= 5,0 cm; B= 5,0 mm.....	108
Figura 2 - Indução de Estrutura Semelhante a Protocormo (ESP) a partir da técnica de Camada Fina Celular (TCL) de protocormos de <i>Coppensia ranifera</i> em meio gelificado. A-B) Formação de ESP com 0,0	

μM TDZ; C) Formação de ESP com TDZ 1,0 μM; D-E) Formação de ESP com TDZ 2,0 μM; F) Formação de ESP com TDZ 4,0 μM; G-H) Formação de ESP com TDZ 8,0 μM. Barra: A-C- D-E-G-H: 3,0 mm; B-F: 5,0 mm.....	110
Figura 3 - Indução de Estrutura Semelhante a Protocormo (ESP) a partir da técnica de Camada Fina (TCL) de protocormos de <i>Coppensia ranifera</i> em meio de cultura líquido. A-B) Formação de ESP com TDZ 0,0 μM; C-D) Formação de ESP com TDZ 1,0 μM; E) Formação de ESP com TDZ 2,0 μM; F) Formação de ESP com TDZ 4,0 μM; G-H) Formação de ESP com TDZ 8,0 μM. Barra: A-B- C: 3,0 mm; D-E-F-G-H: 5,0 mm.....	111
Figura 4 - Respostas fisiológicas do percentual de indução de estrutura semelhante a protocormo (ESP) de <i>Coppensia ranifera</i> em diferentes concentrações de thidiazuron (TDZ) em meio de cultura líquido e gelificado.....	112
Figura 5 - Respostas fisiológicas do número de estrutura semelhante a protocormo (ESP) de <i>Coppensia ranifera</i> em diferentes concentrações de thidiazuron (TDZ) em meio de cultura líquido e gelificado.....	113
Figura 6 - Conversão de plântulas de <i>Coppensia ranifera</i> a partir de ESP via TCL induzidos em meio gelificado. A-B-C) Tratamento com TDZ 0,0 μM; D-E-F) Tratamento com TDZ 1,0 μM; G-H-I) Tratamento com TDZ 2,0 μM; J-K-L) Tratamento com TDZ 4,0 μM; M-N) Tratamento com TDZ 8,0 μM; Barras = 60 mm	116
Figura 7 - Conversão de plântulas de <i>Coppensia ranifera</i> a partir de ESP via TCL induzidos em meio líquido. A-B-C) Tratamento com TDZ 0,0 μM; D-E-F) Tratamento com TDZ 1,0 μM; G-H-I) Tratamento	

com TDZ 2,0 μ M; J-K-L) Tratamento com TDZ
4,0 μ M; M-N) Tratamento com TDZ 8,0 μ M;
Barras = 60 mm 117

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 - Espécies forofíticas colonizadas por <i>C. coccinea</i> na RPPNE Complexo Serra da Farofa. Onde (Nfo) número de forófitos, (NO) número de Orquídeas, (NO/Nfo) proporção de orquídeas por forófito e percentual de ocorrência de orquídeas para cada espécie forofíticas.....	63
Tabela 2 - Espécies de forófitos e frequência de <i>C. coccinea</i> em cada estrato vertical na RPPNE Complexo Serra da Farofa. Nfo, número de forófitos; NFI, número de orquídeas no fuste inferior; NFIn, número de orquídeas no fuste intermediário; NFS, número de orquídeas no fuste Superior; NCI, número de orquídeas na copas internas; NCE, número de orquídeas na copas externas; FrFI, frequência relativa de orquídeas no fuste inferior; FrFIn, frequência relativa de orquídeas no fuste intermédio; FrFS, frequência relativa de orquídeas no fuste superior; FrCI, frequência relativa de orquídeas na copa interna; FrCE, frequência relativa de orquídeas na copa externa...	65
Tabela 3 - Com os valores obtidos através do teste do Qui-quadrado (Probabilidade < 5%), testando a diferença de ocupação dos forófitos para a distribuição nas quatro coordenadas geográficas e nos cinco estratos verticais. Sendo Fuste Inferior (FI), Fuste intermediário (FIn), Fuste superior (FS), Copa interna (CI) e Copa externa (CE)	68

CAPÍTULO II

Tabela 1 - A Proporção (NO/Nfo) de *Coppensia ranifera*.

Para cada espécie de forófito; (Nfo) número de forófitos, (NO) número de Orquídeas e percentual de ocorrência de orquídeas para cada espécie forofíticas..... 88

Tabela 2 - Espécies de forófitos e seus estratos de

distribuição vertical no fragmento na Floresta Ombrófila Mista, em Brunópolis, Santa Catarina, Brasil
Nfo, número de forófitos; NFI, número de orquídeas no fuste inferior; NFIIn, número de orquídeas no fuste intermediário; NFS, número de orquídeas no fuste Superior; NCI, número de orquídeas na copas internas; NCE, número de orquídeas na copas externas; FrFI, frequência relativa de orquídeas no fuste inferior; FrFIIn, frequência relativa de orquídeas no fuste intermédio; FrFS, frequência relativa de orquídeas no fuste superior; FrCI, frequência relativa de orquídeas na copa interna; FrCE, frequência relativa de orquídeas na copa externa... 90

Tabela 3 - Tabela com os valores obtidos através do teste do

Qui-quadrado (Probabilidade de 5 %), mostrando a diferença de ocupação dos forófitos para a distribuição nas quatro coordenadas geográficas em relação aos cinco estratos verticais..... 91

CAPÍTULO III

Tabela 1 - Tabela Conversão de plântulas a partir de ESP via

TCL de *Coppensia ranifera* induzidos em meio de cultura líquido e gelificado em diferentes concentrações de TDZ (Thidiazuron)..... 114

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	31
2	REFERENCIAL TEORICO	34
2.1	A FAMÍLIA ORCHIDACEA.....	34
2.1.1	<i>Cattleya coccinea</i> (Lindl.) Rchb.f	35
2.1.2	<i>Coppensia ranifera</i> (Lindl.) F. Barros & V.T. Rodrigues.....	37
2.2	DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL	38
2.3	CULTIVO DE ORQUÍDEAS <i>IN VITRO</i>	40
3	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
	CAPÍTULO I.....	54
	ASPECTOS ECOLÓGICOS DE <i>Cattleya coccinea</i> EM FRAGMENTOS DE FLORESTA OMBRÓFILA MISTA ALTOMONTANA	54
1	INTRODUÇÃO.....	55
2	MATERIAL E MÉTODOS	58
2.1	LOCAL DE ESTUDO	58
2.2	COLETA DE DADOS A CAMPO	59
2.3	ANÁLISE DOS DADOS.....	61
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
4	CONCLUSÕES	70
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
	CAPÍTULO II	79
	ASPECTOS ECOLÓGICOS DE <i>Coppensia ranifera</i> EM FRAGMENTOS DE FLORESTA OMBRÓFILA MISTA MONTANA	79
1	INTRODUÇÃO.....	80
2	MATERIAL E MÉTODOS	83
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	87
4	CONCLUSÕES	94
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95

CAPÍTULO III.....	103
PROPAGAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE <i>Coppensia ranifera</i> (LINDL.) F. BARROS & V. T. RODRIGUES (ORCHIDACEAE) ATRAVÉS DA TÉCNICA DE CAMADA FINA	103
1 INTRODUÇÃO.....	104
2 MATERIAL E MÉTODOS	107
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	109
4 CONCLUSÕES.....	118
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	119

1 INTRODUÇÃO

O tema uso e conservação de espécies dos ecossistemas florestais tem despertado o interesse de muitos pesquisadores nos últimos anos. Tendo em vista que para poder conservar, ou até mesmo dar uma finalidade econômica para esses recursos, se faz necessário promover um banco de informações sobre as espécies. Essas informações podem colaborar para tomada de decisões que não venham agredir ainda mais os ecossistemas remanescentes.

O homem tem um papel fundamental nas alterações dos sistemas naturais, e acaba causando transformações em uma velocidade, que muitas vezes é superior à capacidade que esses mesmos ambientes têm para se reorganizarem (COSTA, 2014). O resultado das alterações é a fragmentação de habitats, o qual representa umas das mais fortes ameaças para diversidade das espécies, colocando muitas delas a beira da extinção (HAMBLER *et al.*, 2011). A destruição de habitats pela ação antrópica, não só prejudica o ecossistema alterado, bem como áreas adjacentes a ele (BOAKES *et al.*, 2010).

O Bioma Mata Atlântica carrega um histórico de destruição continuo, e sua área de cobertura atualmente limita-se a 12% da extensão original (RIBEIRO *et al.*, 2011). Mesmo com tão poucos remanescentes, ainda é um ecossistema heterogêneo devido a sua grande extensão territorial (SAKA; LOMBARDI, 2016), que abrange áreas com vegetação Tropical e Subtropical (TABARELLI *et al.*, 2010), proporcionando assim, uma grande diversidade de espécies, que também resulta um alto valor de endemismo (SILVA; CASTELETI, 2005). Desta forma, os processos de fragmentação e grande número de espécies endêmicas faz com que a Floresta Atlântica seja considerada um dos 34 hotspots de diversidade do planeta (MITTERMEIER *et al.*, 2005). Neste Bioma são registradas aproximadamente 1511 espécies de orquídeas (FLORA DO BRASIL, 2016). Apesar deste Bioma estar sobre constante ameaça de ações antrópicas, poucas

espécies de orquídeas descritas figuram em risco de extinção. Na Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção, do Ministério do Meio Ambiente (MMA, 2008), cerca de 70 espécies de orquídeas constam na lista, onde a metade desse número está ameaçada, e a outra metade encontra-se com insuficiência de dados sobre seu estado de conservação.

Santa Catarina é um dos estados do sul do Brasil que está todo inserido no Bioma Mata Atlântica e possui uma biodiversidade muito significativa. Estudos que foram realizados no Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina (IFFSC), demonstram a presença de 225 espécies pertencentes a família Orchidaceae (VIBRANS *et al.*, 2012), porém na Flora do Brasil (2016) são registradas 507 espécies de orquídeas para o estado. Já para a Floresta Ombrófila Mista (FOM), um dos tipos de vegetação que forma o Bioma Mata Atlântica, foram contabilizadas 37 espécies para a família (VIBRANS *et al.*, 2013a), e de acordo com Flora do Brasil (2016) para este tipo de vegetação são registradas 73 espécies.

Em um cenário como este, trabalhos de quantificação e qualificação desses recursos naturais se fazem necessários, para se obter informações de quanto existe, e como devemos proceder para conservar e utilizar esse recurso.

A investigação da distribuição espacial poder ser realizada em níveis como; estudo de biogeografia, de comunidades ou ainda no habitat em que estão inseridos (HAY *et al.*, 2000). A distribuição espacial caracteriza a distribuição de uma espécie no ambiente, informando se esta encontra-se de forma agrupada, aleatória ou uniforme (KREBS, 1989). A análise espacial nos fornece informações valiosas sobre as relações entre os organismos e o ambiente (MAESTRE, 2006). Desta forma, podendo ajudar na compreensão dos mecanismos de manutenção da biodiversidade e dinâmica populacional encontrados na natureza (BAWA, 1992; HAY *et al.*, 2000; DUBBERN *et al.*, 2013).

Estudos relacionados a distribuição espacial de espécies, no Brasil, são recentes, porém normalmente direcionados a obtenção de informações da composição florística e da estrutura de comunidades (WAECHTER, 1998; DITTRICH *et al.*, 1999; SCHÜTZ-GATTI, 2000; KERSTEN; SILVA, 2001). Alguns trabalhos também seguiram esse caminho com vários estudos abordando a distribuição espacial de epífitos vasculares nos forófitos (GONÇALVES; WAECHTER 2002; HEFLER; FAUSTONI, 2004; LAUBE; ZOTZ 2006; BUZATTO *et al.*, 2008; DETTKE *et al.*, 2008), enquanto outros autores analisaram apenas Bromeliaceae (BONNET *et al.*, 2007; REIZ; FONTOURA, 2009; FONTOURA; SANTOS, 2010; COSTA *et al.*, 2012). E são poucos os trabalhos com populações de Orchidaceae, e que por haver essa lacuna, necessitam de estudos.

Estudos de ecologia e distribuição espacial podem indicar como esses indivíduos se comportam no seu habitat. Informação essa fundamental para conservação, já que as técnicas de propagação necessitam de material base oriundo das populações naturais. Neste sentido, as informações ecológicas das espécies podem auxiliar no desenho da melhor forma de obter material de propagação minimizando o impacto da extração sobre essas populações.

Técnicas de cultura de tecidos têm auxiliado na preservação de várias espécies epífitas como, *Laelia longipes*, *Miltonia spectabilis*, *Laelia tenebrosa* (Orchidaceae), *Vriesea fosteriana*, *Vriesea hieroglyphica* e *Vriesea friburgensis* (Bromeliaceae), tendo como uma de suas principais vantagens o manuseio de grande número de indivíduos em espaço reduzido e sob condições assépticas (VILLA *et al.*, 2014). A micropropagação é uma das ferramentas que contribui positivamente para a conservação de recursos genéticos vegetais.

Estudos pioneiros de cultivo *in vitro* com orquídeas iniciaram com as gemas e segmentos nodais como fontes de

explantes (ARDITTI, 2008). Porém a propagação massal foi alcançada com o uso de explantes para a formação das estruturas semelhantes à protocormos (ESPs), processo iniciado por Morel (1960) através do cultivo de ápices caulinares de *Cymbidium*, revolucionando a industrialização nas biofábricas de orquídeas (CHUGH *et al.*, 2009). Entre alguns dos fitorreguladores utilizados como indutores pode se destacar as citocininas 6-benziadenina (BA) e o thidiazuron (TDZ), que ativam os processos de regeneração *in vitro* em orquídeas (WU *et al.*, 2012).

O presente trabalho tem como objetivo conhecer e disponibilizar informações de distribuição de *Cattleya coccinea* e *Copensia ranifera*, demonstrando como essas orquidáceas se comportaram no seu habitat, e elucidar as estratégias para micropropagação de *Copensia ranifera*.

2 REFERENCIAL TEORICO

2.1 A FAMÍLIA ORCHIDACEA

A família Orchidaceae faz parte do grupo de Angiosperma, inserida na classe Monocotyledoneae e Ordem Liliales. Sendo uma família botânica muito numerosa apresentando cerca 26.454 espécies distribuídas em 735 gêneros (CHASE *et al.*, 2015). Sua distribuição no globo é muito significativa e ampla, sendo encontrada a partir de regiões, como o norte do continente Europeu e Americano até o extremo sul da Argentina a Terra do Fogo, demonstra indivíduos epífíticos restritos aos trópicos e sub-trópicos do planeta (DRESSLER, 1993).

Com uma distribuição assim tão ampla da Família, o Brasil um país de proporções continentais não poderia deixar de apresentar uma diversidade grandiosa de orquídeas. Os dados da Flora do Brasil (2016) apontam para a ocorrência de 2.539 espécies no país, sendo distribuídas em 248 gêneros, e

em Santa Catarina cerca de 560 espécies (SIQUEIRA *et al.*, 2014). Além disso, com os recentes avanços na genética molecular tem ocorrido reclassificação de muitas espécies e gêneros através de análises filogenéticas (VAN DEN BERG *et al.*, 2009).

De acordo com Dressler (1990) a família Orchidaceae é dividida em seis subfamílias: Apostasioideae, Cypripedioideae, Spiranthoideae, Orchidoideae, Epidendroideae e Vandoideae. As duas últimas destacam-se pelo grande número de espécies exploradas economicamente. A subfamília Epidendroideae, possui gêneros com enorme valor horticultural como *Cattleya*, *Guarianthe* e *Rhyncholaelia* entre outros (VAN DEN BERG *et al.*, 2009), todos de ocorrência natural no Brasil, e que são muito utilizados para a produção de híbridos comerciais.

2.1.1 *Cattleya coccinea* (Lindl.) Rchb.f

O gênero *Cattleya* possui 113 espécies com distribuição Neotropical (VAN DER BERG, 2014; CHASE *et al.*, 2015). No Brasil são descritas 101 espécies, sendo que quase a metade dessas estão no Bioma Mata Atlântica (FLORA DO BRASIL, 2016). E sem levar em consideração a grande variedade de híbridos naturais entre suas próprias espécies e outros gêneros (ARAÚJO, 2016).

A *C. coccinea* (Figura 1) (sinônimo *Sophronitis coccinea*) (BARROS *et al.*, 2016), é uma epífita com flor solitária, normalmente com sépalas e pétalas vermelhas e labelo alaranjado com veias vermelhas (ARAÚJO, 2016). Morfologicamente apresenta as seguintes características: 15 cm altura; rizoma com 0,5 cm comprimento; pseudobulbo unifoliado, ereto, claviforme, 1-2,6 × 0,2-0,7 cm com um entrenó; folhas eretas, oblongas, 2,9-7,3 × 0,9-1,3 cm; espata simples e reduzida, oblíqua, 0,2-0,3 cm comprimento; flor solitária, ressupinada; pedicelo e ovário 1,5-5 cm comprimento; sépalas membranosas, avermelhadas ou alaranjadas, elíptico-lanceoladas, margem inteira, ápice agudo

a acuminado, com sépala dorsal $17-24 \times 5-18$ mm, sépalas laterais $16-23 \times 3-8$ mm; pétalas membranosas, elíptico-lanceoladas, assimétricas, margem ligeiramente ondulada, ápice obtuso, $22-26 \times 14-16$ mm; labelo $15 \times 13-16$ mm, da mesma cor das sépalas e pétalas, conspicuamente trilobado, lobos laterais $4-7 \times 3$ mm, arredondados; lobo terminal $4-5 \times 3-4$ mm, do formato mais ou menos ligulado, ápice arredondado, margem inteira; coluna $4-5 \times 2 \times 2$ mm, provida de asas laterais; polinário composto por oito polínias lateralmente compressas, de cor cinza-claro; fruto com 18×11 mm (BUZATTO, 2010).

Figura 1 - *Cattleya coccinea*. A: planta adulta em tamanho natural. B: planta com detalhes das flores. Barras A e B 5 cm



Fonte: produção próprio autor (2016).

No Rio Grande do Sul e Santa Catarina é encontrada nos Campos de Cima da Serra. Tendo como habitat locais acima dos 800 m de altitude, com frequência em florestas de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze, em ambientes saturados de umidade e frequentemente expostos a nevoeiro (VARELLA; KLEIN, 2016). *C. coccinea* foi registrada na FOM em parcelas na Serra Catarinense (VIBRANS *et al.*, 2013b).

2.1.2 *Coppensia ranifera* (Lindl.) F. Barros & V.T. Rodrigues

O gênero *Coppensia* possui aproximadamente de 53 espécies (WCSP, 2016) com distribuição neotropical na América do Sul. No Brasil o gênero está distribuído em florestas da região Sul, Sudeste e Centro-Oeste (DOCHA-NETO, 2007), registra 38 espécies presente em todos os Biomas (QUEIROZ *et al.*, 2015). Em Santa Catarina ocorrem 14 espécies (SIQUEIRA *et al.*, 2014). Apresenta hábitos epífítico e terrestre, e ocorrem de altitudes que variam de 100 a 1800 m (DOCHA-NETO, 2007). As flores se apresentam na forma de Inflorescência em racemo ou panícula, lateral, pauciflora a multiflora (GUIMARÃES, 2010). Mesmo apresentando diversidade floral, as espécies deste gênero são de fácil identificação por suas sépalas laterais fundidas (STPICZYŃSKA *et al.*, 2013).

A *Coppensia ranifera* (sinônimo *Gomesa ranifera*) (BARROS *et al.*, 2016), foi registrada com ocorrências na Floresta Ombrófila Mista e regiões de ecótonos com Floresta Ombrófila Densa (VIBRANS *et al.*, 2013b; SIQUEIRA *et al.*, 2014). Como epífita, também foi registrada em regiões de ecótono do Parque do Marumbi - Paraná (BIANCHI *et al.*, 2012). Flores pequenas brancas a leves tons de amarelo, com inflorescência racemosa (Figura 2).

Figura 2 - *Coppensia ranifera*. A: planta em tamanho natural. B: detalhe da inflorescência com flores aberta. Barras: A e B 5 cm.



Fonte: produção próprio autor (2016).

2.2 DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL

Os estudos de distribuição espacial de espécies epífíticas têm colaborado muito para entender as relações que as populações estabelecem entre si e com outras espécies. A distribuição horizontal nas áreas, está relacionada a dispersão e as condições de ambiente, e se complementam com a distribuição vertical que está muito relacionada com a condição dos forófitos, e com a estratificação que ocorre ao longo do forófito.

A distribuição espacial das orquídeas epífitas, bem como sua abundância e diversidade está ligada a diversos fatores bióticos e abióticos, que assim compreendem essas espécies. Para Hietz (1997), a distribuição de epífitas em árvores ocorre em função da produção, e do movimento que os diásporos realizam até a sua fixação ao substrato, e com a posterior germinação e desenvolvimento. A distribuição pode variar horizontalmente, em função da formação florestal, e

verticalmente colonizando desde a base até o topo da árvore (STEEGE; CORNELISSEN, 1989).

O processo de estratificação vertical e a distribuição horizontal de epífitas, favorece a criação de condições para fixação de uma variedade imensa de muitas outras espécies (AKINSOJI, 1990). Desta forma a distribuição horizontal também pode ser influenciada pela estrutura das espécies de forofíticas, pois a distribuição destas, e o substrato fornecido por cada espécie arbórea tem características específicas, promovendo assim “especificidade” na relação forófito-hospedeiro (STEEGE; CORNELISSEN, 1989).

A estrutura arbórea determina a qualidade e quantidade de espaço potencial para a colonização dos epífitos (RUDOLPH *et. al.*, 1998). Sendo o forófito um habitat vertical, em que os gradientes de luz e umidade podem ser os fatores determinantes para desenvolvimento dos epífitos (VELOSO; KLEIN, 1957; NIEDER *et. al.*, 1999; KERSTEN; SILVA, 2002).

Os forófitos podem se tornar mais ou menos explorados em função da sua idade e arquitetura (BENZING, 1995). Árvores que apresentam maior idade são, a princípio, estruturalmente mais diversas (NIEDER *et al.*, 1999). Rudolph *et al.* (1998), encontraram evidências de que a inclinação e diâmetro do tronco está relacionado com a diversidade de espécies. Catling e Lefkovich (1989) encontraram relação entre o tamanho das epífitas e o suporte utilizado, enquanto Zimmerman e Olmsted (1992) detectaram preferência das epífitas por forófitos com padrão de casca persistente.

O substrato fornecido pelos forófitos poder ter características que facilitem a colonização, como a textura, porosidade e persistência da casca, pH, toxinas e acúmulo de matéria orgânica (STEEGE; CORNELISSEN, 1989). Esses fatores têm influência direta na capacidade absorção e retenção de água, fixação e germinação das sementes (BONNET, 2001). Neste sentido fixação de espécies epifíticas nos estratos de

alturas no forófito, vai depender da sua exigência quanto ao microclima do habitat (BENNETT, 1986), das condições que são necessárias para germinação de sementes e estabelecimento de suas plântulas (MATOS, 2000).

De acordo com Rudolf *et al.* (1998), a dispersão de diásporos é fator determinante na capacidade de alcance e abundância de uma espécie. De forma similar Benzing e Ott (1981) consideram que o sucesso das plantas epífitas está diretamente ligado à capacidade de propagação e recrutamento em novos habitats. Sendo comum encontrar espécies que habitam as partes mais altas da copa com dispersão anemocórica enquanto espécies que se projetam mais abaixo do dossel são zoocóricas (NIEDER *et al.*, 1999).

2.3 CULTIVO DE ORQUÍDEAS *IN VITRO*

Os protocolos usados para a multiplicação de orquídeas sempre apresentaram métodos biotecnológicos inovadores, quando são comparados com as demais espécies estudadas, e em temos práticos a história da micropropagação de orquídeas se confunde com o da própria cultura de tecidos vegetais (ARDITTI, 2008).

Nos primórdios do cultivo de plantas *in vitro* a germinação simbiótica de sementes de orquídeas por Noel Bernard em 1899 foi o primeiro método utilizado, e a germinação desenvolvida por Knudson no ano de 1922 (ARDITTI, 2008). Como ferramenta biotecnológica a técnica *in vitro* foi utilizada pela primeira vez em 1960 quando Morel e Martin obtiveram plantas livres de vírus utilizando o meio cultivo com ápices caulinares (TORRES *et al.*, 1998).

A partir desse momento foi possível à obtenção de híbridos, e deste a produção de plantas em larga escala (FRITSCHE, 2012) e possibilitando a exploração no cultivo de embriões zigóticos de outras espécies (RAGHAVAN, 2003). Arditti (1967) ressalta que os trabalhos de Knudson contribuíram mais do que qualquer outro pesquisador para a

construção do conhecimento com as orquídeas. Estudos tem demonstrado a existências de outras rotas morfogenéticas para orquídeas além da germinação assimbiótica de sementes e da organogênese, essas rotas morfogenéticas específicas para a regeneração *in vitro* de orquídeas (FRITSCHE, 2012).

Mas recentemente estudos com estruturas semelhantes a protocormos (ESP) tem sido muito estudo por pesquisadores (ARDITTI, 2008). O protocormo é uma estrutura de forma globular (variando entre táxons) composto de células parenquimáticas (BATYGINA *et al.*, 2009). Esta estrutura pode ser obtida a partir de explantes somáticos de diversas origens, tais como folhas (WU *et al.*, 2012), gemas apicais (MONDAL *et al.*, 2013), e os próprios ESPs (NAING *et al.*, 2011; LIAO *et al.*, 2011).

Para determinar as rotas morfogenéticas alguns fitos reguladores são utilizados como indutores, tendo como destacar as citocininas 6-benziadenina (BA) e o thidiazuron (TDZ), que ativam os processos de regeneração *in vitro* em orquídeas (WU *et al.*, 2012). Chung *et al.* (2007) relata bons resultados através da suplementação com citocininas sintéticas na indução de ESP a partir de explantes somáticos em muitas espécies de orquídeas.

3 REFERÊNCIAS

AKINSOJI, A. Studies on epiphytic flora of a tropical rain forest in southwestern Nigeria. **Vegetatio**, n. 88, n. 1, p. 87-92, 1990.

ARAUJO, D. *Cattleya Lindl.* Disponível em: <<http://www.delfinadearaujo.com/generos/cattleya/cat01.htm>>. Acessado em: 27 jun.2016.

ARDITTI, J. Factors affecting the germination of orchid seeds. **The Botanical Review**, v. 33, n. 1, p. 1-97. 1967.

ARDITTI, J. **Micropropagation of orchids**. 2^a ed. Blackwell Publishing, 2008.

BARROS, F. et al. *Orchidaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB11719>>. Acesso em: 03 jun. 2016.

BAWA, K.S. Mating systems, genetic differentiation and speciation in tropical rain forest plants. **Biotropica**, v. 24, n.2, p. 250-255, 1992.

BATYGINA, T.B.; BRAGINA, E.A.; VASILYEVA, V.E. The reproductive system and germination in orchids. **Acta Biologica Cracoviensis**, v. 45, n. 2, p. 21-34, 2009.

BENNETT, B. Patchiness, diversity and abundance relationships of vascular epiphytes. **Selbyana**, v. 9, n. 1, p.70-75, 1986.

BENZING, D.H.; OTT, D.W. Vegetative reduction in epiphytic bromeliaceae and orchidaceae: its origin and significance. **Biotropica**, v. 13, n. 2, p. 131–140, 1981.

BENZING, D.H. Vascular epiphytes. In: Lowman, M.D.; Nadkarni, N.M. **Forest canopies**. San Diego: Academic Press 1995.

BIANCHI, J.S.; MICHELON, C.; KERSTEN, R.A. Epífitas vasculares de uma área de ecótono entre as Florestas Ombrófilas Densa e Mista, no Parque Estadual do Marumbi, PR. **Estudos de Biologia**, v. 34, n. 82, p. 37-44, 2012.

BOAKES, E. H.; MACE, G.M.; MCGOWAN, P.J.K.; FULLER, R.A. Extreme contagion in global habitat

clearance. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 277, n. 1684, p. 1081-1085, 2010.

BONNET, A. Diversidade e distribuição espacial de bromélias epífíticas em quatro estádios sucessionais da floresta ombrófila densa - Ilha de Santa Catarina.

Dissertação de Mestrado em Biologia Vegetal. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

BONNET, A.; QUEIROZ, M.H. Estratificação vertical de bromélias epífíticas em diferentes estádios sucessionais da Floresta Ombrófila Densa, Ilha de Santa Catarina, Brasil.

Revista Brasileira de Botânica, v. 29, n. 2, p. 217-228, 2006.

BONNET, A. et al. Distribuição Horizontal de Bromélias Epífitas na Planície do Rio Iguaçu, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S1, p. 513-515, 2007.

BREIER, T. B. Florística e ecologia de epífitos vasculares em uma Floresta Costeira do Sul do Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1999.

BUZATTO, C.R.; SEVERO, B.M.A.; WAECHTER, J.L. Composição florística e distribuição ecológica de epífitos vasculares na Floresta Nacional de Passo Fundo, Rio Grande do Sul. **Iheringia, Série Botânica**, v. 63, n. 2, p. 231-239, 2008.

BUZATTO, C.R. et al. O gênero Cattleya Lindl. (Orchidaceae: Laeliinae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 4, 2010.

CATLING, P.M.; LEFKOVITCH, L.P. Associations of vascular epiphytes in a Guatemalan Cloud Forest. **Biotropica**, v. 21, n. 1, p. 35-40, 1989.

CHASE, M.W., et al. An updated classification of Orchidaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 177, n. 2, p. 151-174, 2015.

CHUNG, H.H.; CHEN, J.T.; CHANG, W.C. Plant regeneration through direct somatic embryogenesis from leaf explants of *Dendrobium*. **Biologia plantarum**, v. 51, n. 2, p. 346-350, 2007.

CHUGH, S.; GUHA, S.; RAO, I.U. Micropropagation of orchids: a review on the potential of different explants. **Scientia Horticulture**, v. 122, p. 507–520, 2009.

COGLIATTI-CARVALHO, L.; ROCHA, C.F.D. Spatial distribution and preferential substrate of *Neoregelia johannii* (Carrière) L.B. Smith (Bromeliaceae) in a disturbed area of Atlantic Rainforest at Ilha Grande, RJ, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 4, p. 389-394, 2001.

COSTA, A. F.; FONTOURA, T.; AMORIM, A. M. Novelties in Bromeliaceae from the northeastern Brazilian Atlantic Rainforest. **J. Torrey Bot. Soc**, v. 139, n. 1, p. 34-45, 2012.

COSTA, N.C.F. **Estrutura genética espacial, sistema de reprodução e fluxo de pólen em Araucaria angustifolia (Bertol.) Kuntze em pequenas populações remanescentes em paisagem de campo e plantios florestais.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2014.

DETTKE, G.A., ORFRINI, A.C. MILANEZE-GUTIERRE, M.A. Composição florística e distribuição de epífitas vasculares em um remanescente alterado de floresta estacional semidecidua no Paraná, Brasil. **Rodriguésia**, v. 59, n. 4, p. 859-872, 2008.

DITTRICH, V.O.; KOZERA, C.; SILVA, S.M. Levantamento florístico dos epífitos vasculares do Parque Barigui, Curitiba, Paraná, Brasil. **Iheringia, Bot**, n. 52, p. 11-21, 1999.

DOCHA-NETO, A. Sinopse Taxonômica do Gênero *Coppensia* Dumort.: descrição atualizada e chave das espécies. **Orchidstudium - International Journal of Orchid Study**, v. 2, n. 1, p. 14-27, 2007.

DRESSLER, R.L. **The orchids: natural history and classification**. Cambridge: Harvard University Press, 1990.

DRESSLER, R. L. **Phylogeny and classification of the orchid family**. Cambridge: Press, 1993.

DUBBERN, C.A.; LEAL, T.S.; MORAES, C.P. Distribuição espacial de *Oeceoclades maculata* Lindl. (Orchidaceae) em fragmento florestal Estacional Semidecidual da fazenda Santa Tereza, Cordeirópolis, SP, Brasil. **Natureza**, v.11, n. 1, p. 29-32, 2013.

FLORA DO BRASIL. **Orchidaceae Bioma Mata Atlântica**. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br>>. Acesso em: 19 mar. 2016.

FONTOURA, T.; SYLVESTRE, L.S.; VAZ, A.M.S; VIEIRA, C.M. Epífitas vasculares, hemiepífitas e hemiparasitas da Reserva Ecológica de Macaé de Cima. In: LIMA, H.C.; GUEDES-BRUNI, R.R. **Serra de Macaé de Cima:**

diversidade florística e conservação da Mata Atlântica. Rio de Janeiro: Editora do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 1997 p. 89-101.

FONTOURA, T.; SANTOS, F.A.M. Geographic distribution of epiphytic bromeliads in the una region, Northeastern Brazil. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 4, p. 127-131, 2010.

FREIBERG, M. The vascular epiphytes on a *Virola michellii* (Myristicaceae) in French Guiana. **Ecotropica**, v. 5, p. 75-81, 1999.

FRITSCHE, Y. **Regeneração de estruturas semelhantes a protocormos e citometria de fluxo aplicadas ao melhoramento genético e ao estudo do genoma nuclear de orquídea.** Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Florianópolis, 2012.

GONÇALVES, C.N.; WAECHTER, J.L. Epífitos vasculares sobre espécimes de *Ficus organensis* isoladas no norte da planície costeira do Rio Grande do Sul: padrões de abundância e distribuição. **Acta Botanica Brasilica**, v.16, n. 4, p. 429-441, 2002.

GUIMARÃES, L.R.S. **Flora da Serra do Cipó (Minas Gerais, Brasil): Orchidaceae-subfamilia Vanilloideae e subtribos Dendrobiinae, Oncidiinae, Maxilariinae (subfamilia Epidendroideae), Goodyerinae, Spiranthinae e Cranichidinae (subfamilia Orchidoideae).** SP, Brasil. [Dissertação] Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente; São Paulo, 2010.

HAMBLER, C.; HENDERSON, P.A.; SPEIGHT, M.R. Extinction rates, extinction-prone habitats, and indicator groups in Britain and at larger scales. **Biological Conservation**, v. 144, n. 2, p. 713-721, 2011.

HAY, J.D. et al. Comparação do padrão da distribuição espacial em escalas diferentes de espécies nativas do cerrado, em Brasília, DF. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, n. 3, p. 341-347, 2000.

HEFLER, S.M.; FAUSTIONI, P. Levantamento florístico de epífitos vasculares no Bosque São Cristóvão, Curitiba, Paraná, Brasil. **Revista estudos de biologia**, v. 26, n. 54, 11-19, 2004.

HIETZ, P. Population dynamics of epiphytes in a Mexican humid montane forest. **Journal of Ecology**, v. 85, n. 6, p. 767-775, 1997.

KERSTEN, R.A.; SILVA, S.M. Composição florística do componente epífítico vascular em floresta da planície litorânea na Ilha do Mel, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p. 213-226, 2001.

KERSTEN, R.A.; SILVA, S.M. Florística e estrutura do componente epífítico vascular em floresta ombrófila mista aluvial do rio Barigüi, Paraná, Brasil. **Revista brasileira de Botânica**, v. 25, n. 3, p. 259-267, 2002.

KNUDSON, L. Nonsymbiotic Germination of Orchid Seeds. **Botanical Gazzete**, v. 73, n. 1, p. 1-25. 1922.

KREBS, C.J. **Ecological Methodology**. 2^a ed. Harper & Row, Publ., New York, 1989.

LAUBE, S.; ZOTZ, G. Long- term changes of the vascular epiphyte assemblage on the palm *Socratea exorrhiza* in a lowland forest in Panama. **Journal of Vegetation Science**, v. 17, n. 3, p. 307-314, 2006.

MAESTRE, F.T. Análisis y modelización de datos espacialmente explícitos en Ecología. **Revista Ecosistemas**, v. 15, n. 3, p. 1-6, 2006.

MATOS, J.Z. **Ecologia de bromélias com ênfase em *Vriesea incurvata* Gaud. (Bromeliaceae), em áreas com vegetação primária e secundária da floresta tropical atlântica, no sul do Brasil.** Dissertação de Mestrado em recursos Genéticos Vegetais. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2000.

MITTERMEIER, R.A. et al. Hotspots Revisited: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions. **Conservation International. Chicago**. 2005.

MMA, Ministro do Meio Ambiente. **Instrução Normativa N°6 Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção.** Brasília; 2008.

MONDAL, T.; ADITYA, S.; BANERJEE, N. In vitro axillary shoot regeneration and direct Protocorm-like body induction from axenic shoot tips of *Doritis pulcherrima* Lind. **Plant tissue culture and Biotechnology**, v. 23, p. 251-261, 2013.

MOREL, G.M. Producing virus-free cymbidiums. **American Orchid Society Bulletin**, v. 29, p. 495–497, 1960.

NAING, A.H.; CHUNG, J.D.; PARK, I.S.; LIM, K.B. Efficient plant regeneration of the endangered medicinal orchid,

Coleogyne cristata using protocorm-like bodies. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, n. 3, p. 659-666, 2011.

NIEDER, J.; ENGWALD, S.; BARTHLOTT, W. Patterns of neotropical epiphyte diversity. **Selbyana**, v. 20, n. 1, p. 66-75, 1999.

PINTO, A.C.R.; DEMATTÊ, M.E.S.P.; PAVANI, M.C.M.D. Composição florística de epífitas (Magnoliophyta) em fragmento de floresta no município de Jaboticabal, SP, Brasil. **Científica**, v. 23, n. 2, p. 283-289, 1995.

QUEIROZ, V.V.D.; PROENÇA, C.E.B.; BIANCHETTI, L.D.B. Subtribe Oncidiinae Benth. (Orchidaceae Juss.) in Distrito Federal, Brazil. **Hoehnea**, v. 42, n. 4, p. 663-686, 2015.

RAGHAVAN, V. One hundred years of zygotic embryo culture investigations. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 39, n. 5, p. 437-442, 2003.

REIZ, J.; FONTOURA, T. Diversidade de bromélias epífitas na Reserva Particular do Patrimônio Natural Serra do Teimoso. **Biota Neotropica**, v. 9: n. 1, p. 73-79, 2009.

RIBEIRO, M.C.; MARTENSEN, A.C.; METZGER, J.P.; TABARELLI, M.; SCARANO, F.; FORTIN, M.J. The Brazilian Atlantic Forest: a shrinking biodiversity hotspot. In:

ZACHOS, F.E.; HABEL J.C. **Biodiversity hotspots**. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2011.

ROGALSKI, J.M.; ZANIN, E.M. Composição florística de epífitos vasculares no estreito de Augusto César, Floresta

Estacional Decidual do Rio Uruguai, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 4, 551-556, 2003.

ROY, J.; NAHA, S.; MAJUMDAR, M.; BANERJEE, N. Direct and callus-mediated protocorm-like body induction from shoot-tips of *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. (Orchidaceae). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 90, n. 1, p. 31-39. 2007.

RUDOLPH, D.; RAUER, G.; NIEDER, J.; BARTHLOTT, W. Distributional patterns of epiphytes in the canopy and phorophyte characteristics in a western andean rain forest in Ecuador. **Selbyana**, v. 19, n. 1, p. 27-33, 1998.

SAKA, M.N.; LOMBARDI, J.A. Florística vascular não arbórea em uma Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Floresta Atlântica de São Paulo, Brasil. **Rodriguésia**, v. 67, n. 1, p. 001-017, 2016.

SCHÜTZ-GATTI, A. L. **O componente epífítico vascular na Reserva Salto Morato, Guarqueçaba. PR.** Dissertação (Mestrado em Botânica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.

SILVA, J.M.C.; CASTELETI, C.H.M. Estado da biodiversidade da Mata Atlântica brasileira. In: GALINDO-LEAL, C.; CÂMARA, I.G. **Mata Atlântica: Biodiversidade, ameaças e perspectivas.** Fundação SOS Mata Atlântica, São Paulo, 2005.

SIQUEIRA, C.E.; ZANIN, A.; NETO, L.M. Orchidaceae in Santa Catarina: Update, geographic distribution and conservation. **Check List**, v. 10, n. 6, p. 1452-1478, 2014.

STEEGE, H.T.; CORNELISSEN, J.H.C. Distribution and ecology of vascular epiphytes in lowland rain forest of Guyana. *Biotropica*, v. 21, n. 4, p. 331–339, 1989.

STPICZYŃSKA, M.; DAVIES, K.L.; PACEK-BIENIEK, A.; KAMIŃSKA, M. Comparative anatomy of the floral elaiophore in representatives of the newly re-circumscribed *Gomesa* and *Oncidium* clades (Orchidaceae: Oncidiinae). *Annals of botany*, v. 112, n. 5, p. 839-854, 2013.

TABARELLI, M.; AGUIAR, A.V.; RIBEIRO, M.C.; METZGER, J.P.; PERES, C. Prospects for biodiversity conservation in the Atlantic Forest: lessons from aging human-modified landscapes. *Biological Conservation*, v. 143, n. 10, p. 2328-2340, 2010.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. *Embrapa*, v.1. 1998.

VAN DEN BERG, C. et al. A phylogenetic study of Laeliinae (Orchidaceae) based on combined nuclear and plastid DNA sequences. *Annals of botany*, v. 104, n. 3, p. 417-30. 2009.

VAN DEN BERG, C. Reaching a compromise between conflicting nuclear and plastid phylogenetic trees: a new classification for the genus *Cattleya* (Epidendreae; Epidendroideae; Orchidaceae). *Phytotaxa*, v. 186, n. 2, p. 75-86, 2014.

VARELLA, L.F.K.; KLEIN, J. *Sophronitis coccinea*. Disponível em: <http://orquideasgauchas.net/P_desc_especie.php?cod_especie=375&especie=Sophronitis%20coccinea>. Acessado em: 10 mar. 2016.

VELOSO, H.P.; KLEIN, R.M. As comunidades e associações vegetais da mata pluvial do sul do Brasil. ***Sellowia***, v. 9, p. 81-235, 1957.

VIBRANS, A.C.; SEVEGNANI, L.; GASPER, A.L.; LINGNER, D.V. **Diversidade e conservação de remanescentes florestais**. Blumenau: Edifurb, 2012, 344 p. v.1.

VIBRANS, A.C.; SEVEGNANI, L.; GASPER, A.L.; LINGNER, D.V. **Floresta ombrófila mista**. Blumenau: Edifurb, 2013a, 440 p. v.3.

VIBRANS, A.C.; BONNET, A.; CAGLIONI, E.; GASPER, A.L.; LINGNER, D.V. **Epífitos Vasculares da Floresta Ombrófila Densa**. Blumenau: Edifurb; 2013b.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; SILVA, E.F. Micropropagação de híbridos de orquídea em meio knudson com adição de vitaminas do meio ms, benzilaminopurina e carvão ativado. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, p. 683-694, 2014.

WAECHTER, J. L. **O epifitismo vascular na planície costeira do Rio Grande do Sul**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1992.

WAECHTER, J. L. Epifitismo vascular em uma floresta de restinga do Brasil subtropical. **Revista Ciência e Natura**, v. 20, n. 4, p. 43-66, 1998.

WCSP. **World Checklist of Selected Plant Families. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew**. Published on the Internet. Disponível em: <<http://apps.kew.org/wcsp/>>. Acesso em: 24 jun. 2016.

WU, K. et al. Efficient regeneration of *Renanthera* Tom Thumb Qilin from leaf explants. **Scientia Horticulturae**, v. 135, p. 194-201, 2012.

ZIMMERMAN, J.K. & OLMSTED, I.C. Host tree utilization by vascular epiphytes in a seasonally inundated forest (Tintal) Mexico. **Biotropica**, v. 24, n. 3, p. 402-407, 1992.

CAPÍTULO I

ASPECTOS ECOLÓGICOS DE *Cattleya coccinea* EM FRAGMENTOS DE FLORESTA OMBRÓFILA MISTA ALTOMONTANA¹

RESUMO

Cattleya coccinea é uma orquídea muito procurada por colecionadores. O trabalho teve como objetivo avaliar a ocorrência espacial em uma população da espécie, na unidade de conservação Complexo Serra da Farofa, em Urupema, SC. Foram analisadas as frequências de orquídeas nos estratos verticais, nas posições cardeais, e correlação com a altura e diâmetro, cada forófito foi considerado uma unidade amostral. Foram registradas 1398 orquídeas, distribuídas em 258 forófitos. *Drimys angustifolia* correspondeu a 65,1% dos forófitos e sustentou 72,2% das orquídeas. O Fuste intermediário concentrou 68,7%, e a face Norte abrigou 40,0% das orquídeas. A correlação positiva para classes de altura do forófito ($r=0,93$) e Diamétricas ($r=0,95$) em função da frequência de orquídeas e forófitos, onde centro de classe 7,6m obteve 32,0% das orquídeas e forófitos; e o centro de classe 13,4cm registrou 30,0% das orquídeas e forófitos. Os resultados do presente trabalho sugerem que *C. coccinea* possui alta capacidade de colonização do ambiente que está inserida, sendo importante na promoção de ações de conservação para esse habitat.

Palavras-chave: Distribuição Espacial. Forófito. Orchidaceae.

¹ Este manuscrito segue as normas de formatação do periódico - Floresta e Ambiente - Floram

ABSTRACT

Cattleya coccinea is an orchid highly sought after by collectors. The study aimed to evaluate the spatial occurrence in a population of the species, in three installments of the conservation unit complex Serra da Farofa in Urupema, SC. The frequencies of orchids were analyzed in vertical strata, the cardinal points, and correlation with height and diameter, where each host tree was considered a amostal unit. They were recorded in 1398 orchids distributed in 258 phorophytes. *Drimys angustifolia* corresponding to 65.12% of phorophytes and held 72.17% of orchids. The Middle Fuste of phorophytes concentrated 68.74%, and the North face took 39.99% of orchids. The positive correlation to the height of phorophyte ($r = 0.93$) and diameter classes ($r = 0.95$) depending on the frequency of orchids, where 7,55m center class obtained 32% of orchids and phorophytes; and 13,39cm class center obtained 30% of orchids and phorophytes. The data suggest that *C. coccinea* has high environmental colonization capacity that is inserted, it is important to promote conservation actions for this habitat.

Key-words: Spatial Distribution. Phorophyte. Orchidaceae.

1 INTRODUÇÃO

O Bioma Mata Atlântica apresenta uma cobertura atualmente de 12% da extensão original (Ribeiro et al., 2011). Ainda assim é um ecossistema heterogêneo devido a sua grande extensão territorial (Saka & Lombardi, 2016), que abrange áreas com vegetação Tropical e Subtropical (Tabarelli et al., 2010), proporcionando assim, uma grande diversidade de espécies, que também resulta um alto valor de endemismo (Silva & Casteleti, 2005). Desta forma, os processos de fragmentação e o grande número de espécies endêmicas faz com que o Bioma Mata Atlântica seja considerado como um

dos 34 *hotspots* de diversidade do planeta (Mittermeier et al., 2005).

A degradação das florestas acaba transformando o ambiente em uma velocidade superior à capacidade que esses mesmos têm para se reorganizarem (Costa, 2014). O resultado das alterações (desmatamento, urbanização e avanço da agropecuária) é a fragmentação de habitats, o qual representa uma das mais fortes ameaças para diversidade das espécies (Hambler et al., 2011). A destruição de habitats pela ação antrópica, não só prejudica o ecossistema alterado, bem como as áreas próximas a estes (Boakes et al., 2010).

As orquídeas são detentoras de uma grande beleza natural, com as mais variadas formas e cores, apresentam alto valor ornamental, fato que promove a exploração destas plantas em seus ambientes de ocorrência natural, levando muitas espécies à extinção (Schneiders et al., 2015). Elas são plantas importantes para conservação dos sistemas naturais (Galdiano Junior et al., 2012).

Atualmente estão registradas aproximadamente 1511 espécies de orquídeas (Flora do Brasil, 2016). Apesar do Bioma estar sobre constante ameaça por ações antrópicas, poucas espécies de orquídeas descritas figuram em risco de extinção. Já na Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção, do Ministério do Meio Ambiente (MMA, 2008), cerca de 70 espécies de orquídeas constam na lista, das quais metade estão ameaçadas, e a outra metade encontra-se com informações insuficientes sobre o seu estado de conservação.

Santa Catarina é um dos estados do sul do Brasil que está todo inserido no Bioma Mata Atlântica e possui uma biodiversidade muito significativa. Estudos que foram realizados no Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina (IFFSC), demonstram a presença de 225 espécies pertencentes a família Orchidaceae (Vibrans et al., 2012), porém na Flora do Brasil (2016) são registadas 507 espécies de orquídeas para o

estado. Já para a Floresta Ombrófila Mista (FOM) um dos tipos de vegetação que forma o Bioma Mata Atlântica, foram contabilizadas 37 espécies para a família (Vibrans et al., 2013a), e de acordo com Flora do Brasil (2016) para este tipo de vegetação são registradas 73 espécies.

O gênero *Cattleya* com 113 espécies apresenta distribuição Neotropical (Van Der Berg, 2014; Chase et al., 2015), tendo como ambiente de ocorrência florestas secas e úmidas (Araújo, 2016). No Brasil são descritas 101 espécies, sendo que aproximadamente a metade destas estão no Bioma Mata Atlântica (Flora Do Brasil, 2016). Em Santa Catarina são registradas sete espécies (Flora Do Brasil, 2016) e entre estas a *Cattleya coccinea* (sinônimo *Sophronistis coccinea*). Esta orquídea tem como habitat a floresta Nebular ou Altomontana, acima da linha de 1200m de altitude (Ichinose, 2012), como foi observado em FOM na Serra Catarinense (Vibrans et al., 2013).

A distribuição espacial de Orchidaceae ocorre de forma muito diversa na natureza, apresentando por vezes populações com pequenas ou até mesmo grandes dispersões (Raventós et al., 2011). Tais padrões se devem a algumas características, como da vegetação desses ambientes e atributos da própria espécie de orquídea. A distribuição das espécies epífitas nos forófitos pode ser influenciada pelas condições de variação da luminosidade e umidade entre o solo e a copa, porte, arquitetura e características da casca (Gentry & Dodson, 1987; Benzing 1990).

Neste sentido, a distribuição vertical de epífitas tem sido analisada com base na divisão das árvores em zonas, estratos ou intervalos de altura (Steege & Cornelissen, 1989; Kersten & Silva, 2001; Giongo & Waechter, 2004). Pesquisas têm demonstrado que as epífitas apresentam maior riqueza e diversidade sob as copas dos forófitos, provavelmente porque há maior disponibilidade de substrato e diferentes condições de luminosidade e umidade em relação ao tronco (fuste) (Freiberg,

1996; Waechter, 1998; Kersten & Silva, 2002). Grande parte das orquídeas demonstram ter algum tipo de preferência por determinados substratos (Tremblay et al., 1998; Parra-Tabla et al., 2011), que acabam sendo influenciadas diretamente pela distribuição espacial de seus forófitos (Adhikari et al., 2012).

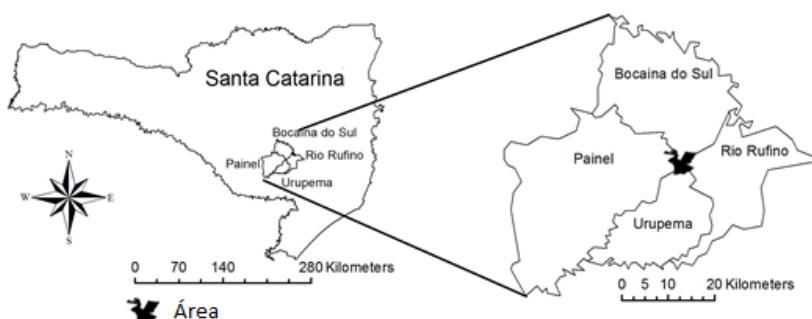
Cattleya coccinea é uma epífita com flor solitária, normalmente com sépalas e pétalas vermelhas e labelo alaranjado com veias vermelhas. Mas há diversas variedades de colorido, sempre com muita procura pelos colecionadores. É planta típica na FOM que coloniza os troncos e encontra o principal fator para sua sobrevivência a elevada umidade do ar (Varella & Klein, 2016). *C. coccinea* apresenta alto valor ornamental e ecológico. Atualmente as populações naturais estão reduzidas a fragmentos isolados, e não existem trabalhos sobre o seu estado de conservação. Neste contexto, este trabalho tem como objetivo avaliar o padrão de distribuição vertical e horizontal de *C. coccinea* em forófitos presentes na FOM Altomontana.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL DE ESTUDO

A área de estudo está situada entre os municípios de Painel, Bocaina do Sul, Rio Rufino e Urupema todos em Santa Catarina (Figura 1), denominada Reserva Particular do Patrimônio Natural Estadual (RPPNE) Complexo Serra da Farofa que pertence a Klabin S.A. a propriedade tem uma área de 1.367,43 hectares. Localizada entre as coordenadas 27° 52' 37,33" S e 49° 55' 14,39" W, com 1.425 m s.n.m., e com seu ponto mais alto localizado no Morro das Torres com 1.750 m s.n.m. Aproximadamente 85% da RPPNE está coberta por Floresta ombrófila mista (FOM) Altomontana. O clima é temperado úmido, Cfb pela classificação de Köppen (1948), precipitação média anual de 1.634 mm, com temperatura média anual é de 14,1°C (Climate, 2016).

Figura 1 - Mapa mostrando a localização da área de estudo RPPNE Complexo Serra da Farofa entre os municípios de Painel, Bocaina do Sul Rio Rufino e Urupema (SC) - Floresta Ombrófila Mista Altomontana, SC, 2012.



Fonte: produção do próprio autor (2016)

2.2 COLETA DE DADOS A CAMPO

A coleta de dados no campo foi realizada de abril de 2015 a abril de 2016, período em que foram realizadas excursões semanais na área de estudo. Os dados foram coletados em três parcelas permanentes de 100x50m (correspondendo a uma área de 1,5 hectares), as quais foram alocadas aleatoriamente em uma porção da RPPNE. Foram considerados como forófitos as árvores que apresentavam Circunferência Altura do Peito (CAP) acima de 15 cm e com presença de *C. coccinea*, ou seja, neste estudo todos os indivíduos avaliados como forófitos apresentavam pelo menos um indivíduo de *C. coccinea*. O CAP dos forófitos foi registrado com auxílio de fita métrica (e convertido para diâmetro a altura do peito DAP através da fórmula 1, para análises posteriores), sendo que cada forófito foi considerado uma Unidade Amostral. Os indivíduos mortos que respeitavam esse padrão também foram considerados como forófitos. As orquídeas foram observadas com auxílio de Binóculos e a sua

posição com relação aos quadrantes Norte, Sul, Leste e Oeste foram registrados com auxílio de uma bússola.

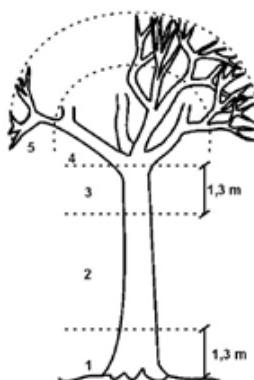
Fórmula 1-Fórmula matemática utilizada para transformação de circunferência a altura do peito (CAP) em diâmetro a altura do peito (DAP), $\pi = 3,1416$.

$$DAP = \frac{CAP}{\pi}$$

A identificação dos forófitos foi feita *in loco* e para classificação adotou-se o Sistema APG III (Bremer et al., 2009). As espécies de forófitos e orquídeas com dificuldades de identificação foram coletadas e herborizadas para posterior comparação com exsicatas do Herbário Lages da Universidade do Estado de Santa Catarina (LUSC) no Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) da UDESC e para identificação por especialistas.

Para avaliar o padrão de distribuição vertical e horizontal de *C. coccinea* os forófitos foram divididos em estratos conforme o método utilizado por Kersten & Kuniyoshi (2009), para o levantamento quantitativo, o qual foi modificado para atender adequações da Floresta Atlântica. Com a divisão da árvore em zonas ecológicas (Figura 2), com base proposto de Braun-Blanquet (1979): 1: Fuste Inferior (FI) (solo até 1,30 m), 2: Fuste intermediário (FIn), 3: Fuste superior (FS) (da base da copa até 1,30 m antes da copa), 4: Copa interna (CI) e 5: Copa externa (CE).

Figura 2 - Esquema didático da divisão do forófito adaptado por Kersten & Kuniyoshi (2009) a partir de Braun-Blanquet (1979), modificado para atender as características da Floresta Atlântica. Sendo assim dividido 1: Fuste Inferior (FI) (solo até 1,30 m), 2: Fuste intermediário (FIn), 3: Fuste superior (FS) (da base da copa até 1,30 m antes da copa), 4: Copa interna (CI) e 5: Copa externa (CE).



Fonte: produção do próprio autor (2016)

2.3 ANÁLISE DOS DADOS

Para análise dos estratos verticais os dados foram calculados com os seguintes parâmetros: frequência relativa (FR) da orquídea sobre o Fuste Inferior ($FRFI = NFI / \Sigma NFI$); frequência relativa da orquídea sobre o Fuste intermediário ($FRFIn = NFIIn / \Sigma NFIIn$); frequência relativa da orquídea sobre o Fuste superior ($FRFS = NFS / \Sigma NFS$); frequência relativa da orquídea na copa interna ($FRCI = NCI / \Sigma NCI$) e frequência relativa da orquídea na copa externa ($FRCE = NCE / \Sigma NCE$), onde NFI = número de orquídeas fustes inferior, ΣNFI = somatório do total de orquídeas no fustes inferior, onde $NFIIn$ = número de orquídeas no fustes intermediário, $\Sigma NFIIn$ = somatório do total de orquídeas no fustes intermediário, onde

NFS = número de orquídeas no fustes superior, ΣNFS = somatório do total de orquídeas fustes superior, NCI = número de orquídeas na copas internas, ΣNCI = somatório do total de orquídeas na copas internas, NCE = número de orquídeas na copas externas, ΣNCE = somatório do total de orquídeas na copas externas (Giongo & Waechter, 2004). A razão de abundância, número de orquídeas por número de forófitos (NO/Nfo) foi calculada para verificar quais espécies de forófitos sustentam relativamente um número maior de orquídeas.

Os dados de DAP e altura foram agrupadas em Classes, onde o intervalo de cada classe. E para cada classe foi analisado as frequências de forófitos e frequência de orquídeas. A correlação entre a distribuição de orquídeas com o DAP (Diâmetro Altura do Peito) e a altura dos forófito, foi verificada através da Correlação de postos de Spearman (Spiegel, 1993). O Teste de χ^2 (Zar, 1999) foi utilizado para avaliar se existe diferença significativa na ocupação do forófito nos diferentes estratos verticais e posição com relação aos pontos cardinais. Todas as análises foram feitas com auxílio do programa estatístico R (versão 2.2.1, R Development Core Team 2010).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No estudo conduzido na RPPNE foram contabilizados 1.398 indivíduos de *C. coccinea*, os quais estavam distribuídos em 258 forófitos, resultando numa razão de abundância (NO/Nfo=5,42) orquídeas por forófito (Tabela 1). Higuchi et al. (2013) em estudo na Floresta Ombrófila Mista (FOM) Altomontana registrou 1.395 indivíduos arbóreos. O resultado de abundância sugere que a área de estudo disponibiliza de grande quantidade árvores que podem ser colonizadas pelas orquídeas. A área possui um histórico de exploração por extração de madeira, uso para criação de gado bovino de maneira extensiva, atividades que causaram degradação por

pisoteio (Martins-Ramos et al., 2011). A razão de abundância de orquídeas está ligada as condições específicas (arquitetura, morfologia, características químicas e fenológicas) apresentadas pelos forófitos (Medeiros et al., 2013).

Tabela 1 - Espécies forofíticas colonizadas por *C. coccinea* na RPPNE Complexo Serra da Farofa. Onde (Nfo) número de forófitos, (NO) número de Orquídeas, (NO/Nfo) proporção de orquídeas por forófito e percentual de ocorrência de orquídeas para cada espécie forofíticas

Espécie	Família	Nfo	NO	NO/Nfo	de Orquíde
<i>Drimys angustifolia</i>	Winteraceae	168 (65,1%)	1009	6,01	72,2
<i>Myrceugenia euosma</i>	Myrtaceae	52 (20,2%)	229	4,4	16,48
<i>Weinmannia humilis</i>	Cunoniaceae	14 (5,4%)	72	5,14	5,2
<i>Siphoneugena reitzii</i>	Myrtaceae	12 (4,7%)	17	1,42	1,2
Indivíduos mortos	-	6 (2,3%)	41	6,83	2,9
<i>Cinnamomum amoenum</i>	Lauraceae	3 (1,2%)	12	4	0,9
<i>Ilex paraguariensis</i>	Aquifoliaceae	2 (0,8%)	17	8,5	1,2
<i>Prunus myrtifolia</i>	Rosaceae	1 (0,4%)	1	1	0,1
Total		258	1398	5,42	100

Fonte: produção do próprio autor (2016)

Dos forófitos registrados, 95,36% são representados por quatro espécies *Drimys angustifolia*, *Myrceugenia euosma*, *Weinmannia humilis* e *Siphoneugena reitzii*. Essas espécies são comuns em Floresta Nebular da Serra Geral (Coradin et al., 2011). As quatro espécies também dão abrigo a aproximadamente 95% das orquídeas registradas. Esse resultado corrobora com Fontoura et al. (2009) que em seu trabalho também observou, que as espécies arbóreas de maior abundância são as que apresentam o maior número de forófitos. Sugerindo que trabalhos relacionados a epífitas, devem ser utilizados para elaboração de proposta de manejo das espécies

arbóreas forofíticas, indicando a importância destas espécies para manutenção das epífitas.

Drimys angustifolia se destacou com o maior número de forófitos (Nfo =168 indivíduos; 65,1% do total) (Tabela 1). A espécie pertencente à família Winteraceae, que na grande maioria de membros ocorrem em florestas úmidas e altomontanas (Judd et al., 1999; Martins et al., 2011). Também apresentou a maior frequência de orquídeas (NO=1009 indivíduos; 72,2% das ocorrências de *C. coccinea*) (Tabela 1). Em outra espécie da família, o *D. brasiliensis*, Vibrans et al., (2013) também fez registro de ocorrência de *C. coccinea* em regiões de ocótono entre Floresta Ombrófila Mista e Floresta Ombrófila Densa. Em *D. brasiliensis* a alta ocorrência de orquídeas pode ser resultado das características como, do tronco cilíndrico com casca áspera (Souza, 2008) tendo assim, uma boa área superficial e com condições para fixação dos epífitos. Entre os fatores que podem influenciar os padrões de distribuição e abundância de epífitas vasculares estão os níveis de luminosidade e a umidade que ocorre abaixo do dossel até o solo, bem como a arquitetura, altura e características da casca externa das árvores (Steege & Cornelissen 1989).

A segunda espécie forofíticas com maior registro foi *M. euosma* (Nfo =52; correspondendo 20,2% do forófitos), os quais apoiavam NO = 229 orquídeas (16,4 % do total) (Tabela1). Outra espécie com números significativos de ocorrência de orquídeas foi *W. humilis* (Nfo = 14 indivíduos; 5,4% do total de forófitos) que sustentam 5,2% das orquídeas (Tabela1). A *S. reitzii* com Nfo = 12; 4,7% dos forófitos, (1,2% das orquídeas). Os demais forófitos (4,7% do total) juntos dão suporte para 5,1% das orquídeas registradas (Tabela 1). As duas espécies de Myrtaceae registras na área, a *M. euosma* e *S. reitzii* abrigavam 17,6% das orquídeas. Em estudo realizado por Kersten e Silva (2001) forófitos de Myrtaceae também apresentaram baixa ocorrência de espécies epifíticas devido as caraterísticas da casca, que acabam descamando do tronco.

Tabela 2 - Espécies de forófitos e frequência de *C. coccinea* em cada estrato vertical na RPPNE Complexo Serra da Farofa.
 Nfo, número de forófitos; NFI, número de orquídeas no fuste inferior; NFIn, número de orquídeas no fuste intermediário; NFS, número de orquídeas no fuste Superior; NCI, número de orquídeas na copas internas; NCE, número de orquídeas na copas externas; FrFI, frequência relativa de orquídeas no fuste inferior; FrFIn, frequência relativa de orquídeas no fuste intermédio; FrFS, frequência relativa de orquídeas no fuste superior; FrCI, frequência relativa de orquídeas na copa interna; FrCE, frequência relativa de orquídeas na copa externa

Espécie	Nfo	NFI	FrFI	NFIn	FrFIn	NFS	FrFS	NCI	FrCI	NCE	FrCE
<i>Drimys angustifolia</i>	168	154	84,15	723	75,23	85	65,89	26	49,06	21	29,17
<i>Myrciaria euosma</i>	52	14	7,65	144	14,98	23	17,83	7	13,21	41	56,94
<i>Weinmannia humilis</i>	14	8	4,37	26	2,71	18	13,95	12	22,64	8	11,11
<i>Siphoneugena reitzii</i>	12	2	1,09	12	1,25	-	-	2	3,77	1	1,39
Indivíduos mortos	6	4	2,19	33	3,43	1	0,78	2	3,77	1	1,39
<i>Cinnamomum amoenum</i>	3	-	-	6	0,62	2	1,55	4	7,55	-	-
<i>Ilex paraguariensis</i>	2	1	0,55	16	1,66	-	-	-	-	-	-
<i>Prunus myrtifolia</i>	1	-	-	1	0,1	-	-	-	-	-	-
Total	258	183		961		129		53		72	

Fonte: produção próprio autor (2016).

Para *I. paraguariensis* foram registrados apenas dois forófitos, que apresentaram ocorrência de orquídeas ($NO = 17$), mas que resultou na melhor proporção de *C. coccinea* por forófito ($NO/Nfo = 8,50$) (Tabela 1). Outro fator relevante observado foi de que essas orquídeas ocorrem no estrato Fuste inferior (FI) e estrato fuste intermediário (FIn) (Tabela 2), e desta forma não comprometeriam uma possível extração sustentável das folhas da erva mate. Os indivíduos mortos se mostraram bons suportes para orquídeas, onde foi observada a segunda maior proporção orquídea/forófito ($NO/Nfo = 6,83$) (Tabela 1). Este resultado revela importância desses indivíduos na composição estrutural das matas estudadas (Oliveira, 2013), pois também representam, os forófitos potencialmente

disponíveis (Callaway et al., 2002). Indicando que troncos e outras superfícies que apresentem condições necessárias podem ser colonizadas por epífito, como as orquídeas. Oliveira & Arcela (2014) observaram em *Tillandsia tenuifolia* (Bromeliaceae) uma espécie epífita tem capacidade de colonizar forófitos, de quaisquer espécies, inclusive indivíduos mortos. Estes autores relatam a importância das árvores, mesmo mortas, em manter outras espécies não madeiráveis dentro da floresta.

Unidos os cinco estratos verticais (Tabela 3) em apenas dois, tronco e copa pode se observar que 91,1% das orquídeas estavam no tronco, e apenas 8,9% estavam na copa. Situação similar foi observado na distribuição espacial de Bromeliaceae (Hoeltgebaum, 2013). Em estudo de epífitos vasculares realizado por Kersten & Silva (2001) também registraram maior abundância e frequência de indivíduos no tronco. Kersten & Silva (2002) ressaltam que as condições de luminosidade, umidade e disponibilidade de espaço podem influenciar nas estratificações dos epífitos.

Para a distribuição vertical de *C. coccinea* a espécie forofítica *D. angustifolia* que apresentou a maior frequência de forófitos também se destaca nos valores registrados em cada estrato vertical, principalmente para o Fuste intermediário (NFI_{In} = 723; FrFI_{In} = 73,23). Na sequência podemos ressaltar os valores também do FI (NFI=154; FrFI=84,15), FS (NFS = 85; FrFS= 65,89) e CI (NCI = 26; FrCI = 49,06) (Tabela 2). Para *D. brasiliensis* foi registrado a maior ocorrência de *C. coccinea* na copa externa (Vibrans et al., 2013), essas diferenças podem estar ligadas aos locais de observação. A formação de estratos das epífitas vasculares é mais visível em floresta que apresentam alta umidade, quando comparada a outros sistemas florestais, devido as características de adaptação a ambientes com condições variáveis de luz e umidade (Zimmerman & Olmsted, 1992), desta forma, algumas

espécies ocorrem com maior frequência em determinada zona do forófito (Rogalski & Zanin, 2003).

Os dados que foram submetidos ao teste de Qui-quadrado (X^2) para testar a distribuição de orquídeas nas coordenadas, onde hipótese nula foi aceita para os estratos superiores CE e CI de que a distribuição de orquídeas é igual nos quatros quadrantes (Tabela 3). Ao aplicar o teste avaliando a distribuição das orquídeas nos cinco estratos verticais, sugere-se a rejeição da hipótese nula para todos os quadrantes. As maiores frequências de orquídeas foram registradas no estrato FIn (68,7%) e quadrante Norte (40,0%). Em *Telipogon helleri* (Orchidaceae) García-González & Damon (2013) verificaram o maior número (78,3%) no estrato intermediário (2-4m), e a face nordeste abrigando 45,7% orquídeas. Em estudo realizado por Kersten & Silva (2001) as espécies *Epidendrum latilabre* e *E. rigidum* (Orchidaceae) registraram suas maiores frequências em estratos que variavam de 2-4m e 4-6m. Em forófito nativos Souza et al. (2013) também observaram influência de luminosidade e umidade na presença de epífitos entre as faces Norte, Sul, Leste e Oeste. Um resultado antagônico a esse estudo foi de Rech et al. (2011) que relatou uma maior incidência de orquídeas na face sul, a qual estava voltada para um rio e pode ter interferido nos resultados, conforme comenta o autor. Por ocorrer preferencialmente em determinada orientação cardeal, García-González & Damon (2013) sugerem que estudos para determinar a sazonalidade e direção predominante dos ventos na área, que trazem a chuva, pois acabam influenciando no processo de dispersão e germinação de orquídea.

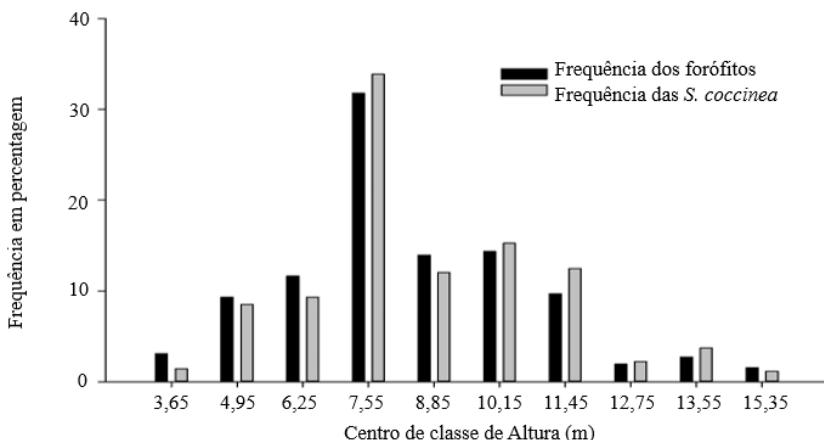
Tabela 3 - Com os valores obtidos através do teste do Qui-quadrado (Probabilidade < 5%), testando a diferença de ocupação dos forófitos para a distribuição nas quatro coordenadas geográficas e nos cinco estratos verticais. Sendo Fuste Inferior (FI), Fuste intermediário (FIn), Fuste superior (FS), Copa interna (CI) e Copa externa (CE)

Estrato vertical	Coordenadas				Total	X ² Calculado	GL
	Norte	Sul	Leste	Oeste			
FI	78 (5,6%)	24 (1,7%)	28 (2,0%)	53 (3,9%)	183 (13,1%)	41,1	3
FIn	395 (28,3%)	131 (9,4%)	228 (16,3%)	207 (14,8%)	961 (68,7%)	154,58	3
FS	51 (3,7%)	23 (1,7%)	35 (2,5%)	20 (1,4%)	129 (9,2%)	18,44	3
CI	18 (1,3%)	9 (0,6%)	18 (1,3%)	8 (0,6%)	53 (3,8%)	6,85	3
CE	17 (1,2%)	15 (1,1%)	19 (1,4%)	21 (1,5%)	72 (5,2%)	1,11	3
Total	559 (40,0%)	202 (14,5%)	328 (23,5%)	309 (22,1%)			
X² Cal.	919,94	235,45	505,51	444,45			
GL	4	4	4	4			

Fonte: Produção do próprio autor (2016).

Com relação a frequência de *C. coccinea* e forófitos para Classes de Altura, os maiores valores registrados foram para o centro de classe de 7,6m (Figura 3) com 32,2% do total de orquídeas e 31,8% do total de forófitos. A correlação de Spearman foi positiva ($r=0,93$) indicando que existe uma correlação entre as alturas do forófito e distribuição de orquídeas, seguindo também um modelo de curva normal de distribuição (Figura 3). Kersten & Silva (2002) relatam que as condições de cada floresta, quanto a sua organização podem influenciar quantidade de luz que incide seu interior, favorecendo a ocorrência das epífitas. A correlação entre a altura dos forófitos e frequência de orquídeas no fuste aponta que a influência desses fatores abióticos pode colaborar para esses resultados, como por exemplo a umidade ser maior, abaixo das copas evitando o estresse hídrico, o qual é um fator limitante para epífitos, conforme relatado por Benzing (1990).

Figura 3 - Frequência relativa de alturas dos forófitos e distribuição de *C. coccinea* em relação ao centro de classes de alturas

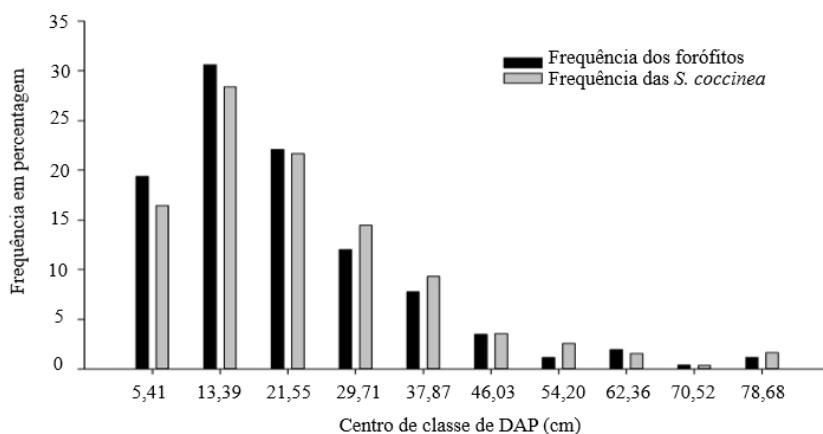


Fonte: Produção do próprio autor (2016).

Para Classe de DAP as maiores frequências foram registradas nos centros de classe 13,5cm com 28,4% do total de orquídeas e 30,6% do total de forófitos; e no centro de classe com 21,6cm 21,7% do total de orquídeas em 22,1% dos forófitos (Figura 4). A correlação encontrada pelo teste de Spearman foi ($r=0,95$) demonstrando uma relação positiva entre o DAP dos forófitos e distribuição das orquídeas. Com esse mesmo parâmetro forofítico Hoeltgebaum et al. (2013) também verificaram valores de correlação positiva na ocorrência de bromélias epífíticas.

A forte relação positiva encontrada entre a abundância de *C. coccinea* com o DAP e altura dos forófitos demonstra disponibilidade dos forófitos para colonização, existência de espaço a ser ocupado, e a formação de gradientes microclimáticos que a floresta proporciona ao longo de todo o forófito (Benzing, 1995).

Figura 4 - Frequência relativa de DAP dos forófitos e distribuição de *C. coccinea* em relação ao centro de Classes dos DAP



Fonte: Produção do próprio autor (2016).

Valores positivos entre abundância epífita e DAP revelou que as áreas com maior número de árvores têm maior capacidade para hospedagem de espécies epífitas (Dias, 2009).

4 CONCLUSÕES

A ocorrência de *Cattleya coccinea* apresentou maior frequência no estro vertical Fuste médio e na face Norte indicando que fatores ambientais estão influenciando nos processos de colonização. Os forófitos de *Drimys angustifolia* com sua abundância contribuí para ocorrência da espécie. As correlações positivas estabelecidas entre a ocorrência de orquídeas e as classes diamétricas e de altura sugerem que independente desses valores todos os forófitos apresentam requisitos mínimos para suportar orquídeas, e estão passivos de serem colonizados. Indicando que a conservação deste remanescente tem influência direta na população de *C. coccinea*. Assim, estratégias de preservação destes habitats

naturais, devem ser prioritários para a sobrevivência das espécies epífíticas.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adhikari YP, Fischer HS, Fischer A. Host tree utilization by epiphytic orchids in different land-use intensities in Kathmandu Valley, Nepal. *Plant Ecology* 2012; 213(9): 1393-1412.

Araújo D. *Sophronitis Lindl.* Acessado em: 09 mar.2016. Disponível em:
http://www.delfinadearaujo.com/on/on37/genero_sopronitis/Sophronitispage1.htm

Benzing, DH. *Vascular Epiphytes*. New York: Cambridge University Press; 1990.

Benzing DH. Vascular epiphytes. In: Lowman MD, Nadkarni NM, editores. *Forest canopies*. San Diego: Academic Press 1995.

Boakes EH, Mace GM, McGowan PJ, Fuller RA. Extreme contagion in global habitat clearance. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 2010; 277(1684): 1081-1085.

Braun-Blanquet J. *Fitossociología: bases para el estudio de las comunidades vegetales*. Madrid: H. Blume, 1979.

Bremer B, Bremer K, Chase M, Fay M, Reveal J, Soltis D, et al. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 2009.

Callaway RM, Reinhart KO, Moore GW, Moore DJ, Pennings SC. Epiphyte host preferences and host traits: mechanisms for species-specific interactions. *Oecologia*, 2002; 132(2): 221–230.

Climate. *Dados climáticos para cidades mundiais*. Acesso em: 05 abr. 2016. Disponível em: <http://pt.climate-data.org>.

Coradin L, Siminski A, Reis A, editores. *Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial*. Brasília: MMA; 2011.

Costa NCF. *Estrutura genética espacial, sistema de reprodução e fluxo de pólen em Araucaria angustifolia (Bertol.) Kuntze em pequenas populações remanescentes em paisagem de campo e plantios florestais*. Lages: Universidade do Estado de Santa Catarina; 2014.

Dias ADS. *Ecologia de epífitas vasculares em uma área de mata atlântica do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Teresópolis, RJ*. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2009.

Flora do Brasil. *Orchidaceae Bioma Mata Atlântica*. Acesso em: 19 mar. 2016. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br>.

Fontoura T, Rocca MA, Schilling AC, Reinert F. Epífitas da floresta seca da Reserva Ecológica Estadual de Jacarepiá, sudeste do Brasil: relações com a comunidade arbórea. *Rodriguésia* 2009; 60(1): 171-185.

Freiberg M. Spatial distribution of vascular epiphytes on three emergent canopy trees in French Guiana. *Biotropica* 1996; 28(3): 345-355.

García-González, A, Damon, A. Abundancia, distribución en los forófitos y producción de frutos de la primera población de *Telipogon helleri* (Orchidaceae) descubierta en México. *Revista mexicana de biodiversidade* 2013; 84(3), 894-900.

Galdino Júnior RF, Mantovani C, Pivetta KFL, Macedo Lemos EG. Crescimento *in vitro* e aclimatização de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae) com carvão ativado sob dois espectros luminosos. *Ciência Rural* 2012; 42(5): 801-807.

Gentry AH, Dodson CH. Diversity and biogeography of neotropical vascular epiphytes. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 1987; 74(2): 205-233.

Giongo C, Waechter JL. Composição florística e estrutura comunitária de epífitos vasculares em uma floresta de galeria na Depressão Central do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Botânica* 2004; 27(3), 563-572.

Gonçalves CN, Waechter JL. Epífitos vasculares sobre espécimes de *Ficus organensis* isolados no norte da Planície Costeira do Rio Grande do Sul: Padrões de abundância e distribuição. *Acta botanica brasílica* 2002; 16(4): 429-441.

Hambler C, Henderson P A, Speight MR. Extinction rates, extinction-prone habitats, and indicator groups in Britain and at larger scales. *Biological Conservation* 2011; 144(2): 713-721.

Hoeltgebaum MP; Queiroz MH, Reis MS. Relação entre bromélias epífíticas e forófitos em diferentes estádios sucessionais. *Rodriguésia* 2013; 64(2): 337-347.

Ichinose, JGS. *Paclobutrazol no crescimento e desenvolvimento in vitro e na aclimatização de Sophronitis*

cernua (Lindl.) Lindl. e Brassavola flagellaris Barb. Rodr.
(*Orchidaceae*) [Tese]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista; 2012.

Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF. *Plant Systematic, a phylogenetic approach*. Sinauer Associates Inc.
Publisher Sander and Massachusetts, 1999.

Kersten RDA, SILVA SM. Composição florística e estrutura
do componente epífítico vascular em floresta da planície
litorânea na Ilha do Mel, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 2001; 24(2): 213-226.

Kersten, RA, Silva SM. Florística e estrutura do componente
epífítico vascular em floresta ombrófila mista aluvial do rio
Barigüi, Paraná, Brasil. *Revista brasileira de Botânica* 2002;
25(3): 259-267.

Kersten RA, Kuniyoshi YS. Conservação das florestas na bacia
do alto Iguaçu, Paraná—Avaliação da comunidade de epífitas
vasculares em diferentes estágios serais. *Floresta* 2009; 39(1):
51-66.

Koeppen W, editor. *Climatología: con un estudio de los
climas de la tierra*. Mexico: Fondo de cultura economica,
1948.

Martins D, Chaves CL, Bortoluzzi RDCL, Mantovani A.
(2011). Florística de Floresta Ombrófila Mista Altomontana e
de Campos em Urupema, Santa Catarina, Brasil. *Revista
Brasileira de Biociências* 2011; 9(2): 156-166.

Medeiros TDS, Jardim MAG. Distribuição vertical de
orquídeas epífitas na área de proteção ambiental (APA) Ilha do

Combu, Belém, Pará, Brasil. *Revista brasileira de Biociências* 2011; 9(1): 33-38.

Medeiros TDS, Jardim MAG, Quaresma AC. Forófitos preferenciais de orquídeas epífitas na APA Ilha do Combu, Belém, Pará, Brasil. *Biota Amazônia* 2014; 4(3): 1-4.

Ministro de Estado do Meio Ambiente. Instrução Normativa N°6 Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção. Brasília; 2008.

Mittermeier RA, Gil PR, Hoffmann M, Pilgrim J, Brooks T, Mittermeier CG, Lamoreux J et al. *Hotspots Revisited: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions*. Conservation International. Chicago. 2005.

Oliveira RP, Arcela V. Distribuição vertical e valor de importância das epífitas vasculares da Reserva Biológica do Guará, Brasília, DF. *Heringiana*, 2014; 8 (1): 20-31.

Oliveira RP. *Comunidades epífita e arbórea em matas de galeria no Distrito Federal, Brasil*. Dissertação, Brasília. Universidade de Brasília, 2013.

Parra-Tabla V, Vargas CF, Naval C, Calvo LM, Ollerton J. Population status and reproductive success of an endangered epiphytic orchid in a fragmented landscape. *Biotropica* 2011; 43(5): 640-647.

R Core Team., 2010. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria.

Raventós J, Mujica E, Wiegand T, Bonet A. Analyzing the spatial structure of *Broughtonia cubensis* (Orchidaceae)

populations in the dry forests of Guanahacabibes, Cuba. *Biotropica* 2011; 43(2): 173-182.

Rech AR, Rosa YBCJ, Rosa-Junior EJ. Inventory and ecologic features of Orchidaceae in the Rio Dourados riparian Forest, Dourados-MS. *Revista Árvore* 2011; 35(3): 717-724.

Ribeiro MC, Martensen AC, Metzger JP, Tabarelli M, Scarano F, Fortin MJ. The Brazilian Atlantic Forest: a shrinking biodiversity hotspot. In: Zachos FE, Habel JC, editores. *Biodiversity hotspots*. Springer, Berlin: Heidelberg; 2011.

Rogalski JM, Zanin EM. Composição florística de epífitos vasculares no estreito de Augusto César, floresta Estacional Decidual do Rio Uruguai, RS, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 2003; 26(4): 551-556.

Tremblay RL, Zimmerman JK, Lebrón L, Bayman P, Sastre I, Axelrod F. Host specificity and low reproductive success in the rare endemic Puerto Rican orchid *Lepanthes caritensis*. *Biological Conservation* 1998; 85(3): 297-304.

Saka MN, Lombardi JA. Florística vascular não arbórea em uma Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Floresta Atlântica de São Paulo, Brasil. *Rodriguésia* 2016; 67(1):001-017.

Schneiders D, Pescador R, Booz MR, Suzuki RM. Germinação, crescimento e desenvolvimento *in vitro* de orquídeas (*Cattleya* spp., Orchidaceae). *Ceres* 2015; 59 (2): 185-191.

Silva JMC, Casteleti CHM. Estado da biodiversidade da Mata Atlântica brasileira. In: Galindo-Leal C, Câmara IG, editores.

Mata Atlântica: Biodiversidade, Ameaças e Perspectivas.
Fundação SOS Mata Atlântica, São Paulo; 2005.

Souza VC. *Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerófitas nativas e exóticas no Brasil.* 2^a Edição. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2008.

Spiegel MR. *Estatística.* 3^a edições, São Paulo: Makron Books, 1993.

Steege HT, Cornelissen JHC. Distribution and ecology of vascular epiphytes in lowland rain forest of Guyana. *Biotropica* 1989; 21(4): 331-339.

Tabarelli M, Aguiar AV, Ribeiro MC, Metzger JP, Peres CA. Prospects for biodiversity conservation in the Atlantic Forest: lessons from aging human-modified landscapes. *Biological Conservation* 2010; 143(10): 2328-2340.

Varella LFK, Klein J. *Sophronitis coccinea.* Acessado em: 10 mar. 2016. Disponível
em:http://orquideasgauchas.net/P_desc_especie.php?cod_especie=375&especie=Sophronitis%20coccinea.

Vibrans AC, Sevgnani L, Lingner DV, Gasper AL, Sabbagh S. Inventário florístico florestal de Santa Catarina (IFFSC): aspectos metodológicos e operacionais. *Pesquisa Florestal Brasileira* 2010; 30(64): 291-302.

Vibrans AC, Sevgnani L, Gasper AL, Lingner DV, editores. *Diversidade e Conservação dos Remanescentes Florestais.* Blumenau: Edifurb, 2012.

Vibrans AC, Bonnet A, Caglioni E, Gasper AL, Lingner DV, editores. *Floresta Ombrófila.* Blumenau: Edifurb; 2013a.

Vibrans AC, Bonnet A, Caglioni E, Gasper ALde, Lingner DV, editores. *Epífitos Vasculares da Floresta Ombrófila Densa*. Blumenau: Edifurb; 2013b.

Waechter JL. Epifitismo vascular em uma floresta de restinga do Brasil subtropical. *Revista Ciência e Natura* 1998; 20(4): 43-66.

Zar JH. *Biostatistical analysis*. New Jersey, Prentice Hall. 1999.

Zimmerman JK, Olmsted IC. Host tree utilization by vascular epiphytes in a seasonally inundated forest (Tintal) in Mexico. *Biotropica* 1992; 24(3): 402-407.

CAPÍTULO II

ASPECTOS ECOLÓGICOS DE *Coppensia ranifera* EM FRAGMENTOS DE FLORESTA OMBRÓFILA MISTA MONTANA²

RESUMO

Coppensia ranifera é uma orquídea epífita pouco estudada e de ocorrência na Floresta Ombrófila Mista. O trabalho teve como objetivo avaliar a distribuição de uma população da espécie em fragmento florestal no município de Brunópolis, SC. O fragmento tem aproximadamente 2,7 hectares e todos os forófitos foram avaliados (censo). Foram analisadas as frequências de orquídeas em estratos verticais, nas posições cardeais, e correlação com a altura e diâmetro. Foram amostradas 473 orquídeas, distribuídas em 72 forófitos. *Lamanonia ternata* registrou 34,72% dos forófitos e abrigou 42,49% das orquídeas. O Fuste intermediário dos forófitos concentraram 54,76% e a face norte 40,59% orquídeas. A correlação positiva para a altura do forófito ($r=0,25$) e negativa para classes diamétricas ($r= -0,88$) em função da frequência de orquídeas, onde centro de classe 14,38m obteve 17% das orquídeas e dos forófitos; e o centro de classe 17,51cm obteve 20% das orquídeas e forófitos. Os dados indicam a capacidade de colonização e a importância de ações de conservação da espécie em áreas alteradas.

Palavras-chave: Distribuição Espacial. Forófito. Orchidaceae.

² Este manuscrito segue as normas de formatação do periódico – Floresta e Ambiente – Floram.

ABSTRACT

Coppensia ranifera is a little studied epiphytic orchid and occurrence in Mixed Ombrophilous Montane Forest. The study aimed to evaluate the distribution of a population of the species in a forest fragment in the city of Brunópolis, SC. The fragment is about 2.7 hectares and all phorophytes were evaluated (census). The frequencies of orchids were analyzed in vertical strata, the cardinal points, and correlation with height and diameter. They sampled 473 orchids, distributed in 72 phorophytes. *Lamanonia ternata* registered 34.72% of phorophytes and took 42.49% of orchids. The intermediate fuste of phorophytes concentrated 54.76% and 40.59% north face orchids. The positive correlation to the height of phorophyte ($r = 0.25$) and negative for diametric classes ($r = -0.88$) as a function of frequency orchids where 14,38m center class obtained 17% of orchids and phorophytes; and 17,51cm class center obtained 20% of orchids and phorophytes. The data indicate colonization capacity and the importance of species conservation actions in disturbed areas.

Key-words: Spatial Distribution. Phorophyte. Orchidaceae.

1 INTRODUÇÃO

A beleza das flores é o atributo ornamental das orquídeas que mais chama atenção de colecionadores, agregando a elas um alto valor ornamental e econômico, que impulsionou exploração descontrolada, colocando muitas espécies no caminho da extinção (Schneiders et al., 2015). São plantas de alto valor ecológico e juntamente com outras espécies epífita contribuem para manutenção da diversidade dos ambientes naturais (Galdiano Junior et al., 2012; Padilha et al., 2015).

O desmatamento e urbanização causaram transformações tão rápidas no ambiente, que a própria

capacidade que estes têm para se reorganizarem não é capaz de revertem os danos da degradação (Costa, 2014). As alterações do ambiente por ações antrópicas têm conduzido a fragmentação de habitats, tal processo tem se tornado uma forte ameaça para biodiversidade das espécies, aproximando muitas delas do desaparecimento (Hambler et al., 2011). As ações antrópicas acabam interferindo não só em um único local, mas em áreas próximas também (Boakes et al., 2010).

O Bioma Mata Atlântica atualmente encontra se com 12% da extensão original (Ribeiro et al., 2011). Neste Bioma a retirada excessiva de madeiras de grande valor contribui para redução das reservas naturais (Nascimento et al., 2001). Esta ação seguida da exploração da terra pelo homem para agricultura e expansão das cidades agravou ainda mais o problema (Tabarelli et al., 2005). Mesmo com o Bioma fortemente fragmentado estão registradas aproximadamente 1511 espécies de orquídeas (Flora do Brasil, 2016). Em torno de 70 espécies de orquídeas constam na Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção, do Ministério do Meio Ambiente (MMA, 2008), das quais metade estão ameaçadas, e a outra metade encontra-se com insuficiência de dados sobre seu estado de conservação.

No estado de Santa Catarina dados de biodiversidade do Bioma Mata Atlântica são muito significativos, pois em estudos realizados no Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina (IFFSC) há registro de 225 espécies pertencentes a família Orchidaceae (Vibrans et al., 2012). Já a Flora do Brasil (2016) aponta presença de 507 espécies de orquídeas Santa Catarina. Para região fitoecológica da Floresta Ombrófila Mista – FOM no estado de SC foram contabilizou 37 espécies para a família (Vibrans et al., 2013a), enquanto na Flora do Brasil (2016) para mesma região foram registradas 73 espécies.

No Brasil o gênero *Coppensia* está distribuído nas florestas da região Sul, Sudeste e Centro-Oeste (Docha-Neto, 2007), e 38 espécies foram registradas até o presente em todos

os Biomas (Queiroz et al., 2015). No estado de Santa Catarina ocorre 14 espécies (Siqueira et al., 2014), com orquídeas de hábitos epífítico e terrestre ocorrendo em altitudes que variam de 100 a 1800 m (Docha-Neto, 2007). As flores se apresentam na forma de Inflorescência em racemo ou panícula, lateral, pauciflora a multiflora (Guimarães, 2010). Mesmo apresentando diversidade floral, as espécies do deste gênero são de fácil identificação por suas sépalas laterais fundidas (Stpiczyńska et al., 2013).

A *Coppensia ranifera* (sinônimo *Gomesa ranifera*) (Barros et al., 2016), foi registrada com ocorrências na Floresta Ombrófila Mista e regiões de ecótonos com Floresta Ombrófila Densa (Vibrans et al., 2013b; Siqueira et al., 2014). Sendo uma das epífita, que também está registrada em regiões de ocótono do Parque do Marumbi-Paraná (Bianchi et al., 2012). Possui flores pequenas brancas á leves tons de amarelo, e inflorescência racemosa.

A ocorrência de Orchidaceae nos ambientes naturais pode constituir populações com pequenas ou até mesmo grandes dispersões (Raventós et al., 2011), padrões que são influenciados pela vegetação desses ambientes e atributos da própria espécie de Orquídea. A distribuição das espécies epífíticas nos forófitos pode ser dada pelas condições de variação da luminosidade e umidade entre o solo e a copa, porte, arquitetura e características da casca (Gentry & Dodson, 1987; Benzing 1990).

A distribuição vertical de epífitas tem sido analisada com base na divisão das árvores em zonas, estratos ou intervalos de altura (Steege & Cornelissen, 1989; Kersten & Silva, 2001; Giongo & Waechter, 2004). Pesquisas têm demonstrado que as epífitas apresentam maior riqueza e diversidade sob as copas dos forófitos, provavelmente porque há maior disponibilidade de substrato e diferentes condições de luminosidade e umidade em relação ao tronco (fuste) (Freiberg, 1996; Waechter, 1998; Kersten & Silva, 2002). Grande parte

das orquídeas demonstram ter algum tipo de preferência por determinados substratos (Tremblay et al., 1998; Parra-Tabla et al., 2011), que acabam sendo influenciadas diretamente pela distribuição espacial de seus forófitos (Adhikari et al., 2012).

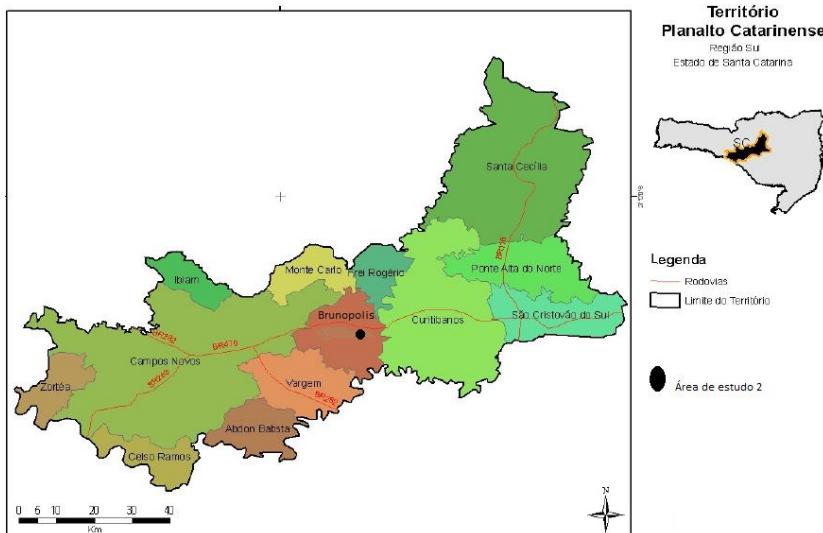
Coppensia ranifera ainda não possui valor comercial como ornamental, mas apresenta importância ecológica, por estar inserida em áreas fragmentadas por ações antrópicas. As populações naturais desta orquídea estão reduzidas a fragmentos isolados e perturbados, desprovidos de estudo sobre o seu estado de conservação. Neste contexto, este trabalho tem como objetivo avaliar a distribuição de *C. ranifera* forófitos de um fragmento da FOM Montana.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 ÁREA DE ESTUDO

Área de estudo está localizada no município Brunópolis na região do Planalto Catarinense (Figura 1), em uma propriedade particular. É um fragmento de 2,7 hectares de Floresta Ombrófila Mista, situado na comunidade Rios dos Touros, entre as coordenadas 27°18'21" sul e 50°52'06" oeste. O clima é temperado sendo classificado Cfb de acordo com a Köppen (1948). A temperatura média é de 15.9 °C e a precipitação média anual é de 1717 mm (Climate, 2016). A área foi alvo de exploração de madeira, e atualmente se encontra circundada por monocultivo de *Pinus* sp. e *Eucalyptus* sp.

Figura 1 - Mapa mostrando a localização da área de estudo, uma Propriedade particular, que está situada no município de Brunópolis (SC) localizado no Planalto Catarinense - Floresta Ombrófila Mista, SC, (Brasil, 2010).



Fonte; Produção do próprio autor (2016)

2.2 OBTENÇÃO DE DADOS

A coleta de dados no campo foi realizada novembro de 2014 a fevereiro de 2016, período em que foram realizadas excursões semanais nas áreas de estudo. Os dados foram obtidos em toda área de 2,7 hectares (censo). Foram considerados como forófitos as árvores que apresentavam Circunferência Altura do Peito (CAP) acima de 15 cm e com presença de *C. coccinea*, ou seja, neste estudo todos os indivíduos avaliados como forófitos apresentavam pelo menos um indivíduo de *C. ranifera*. O CAP dos forófitos foi registrado com auxílio de fita métrica (e convertido para diâmetro a altura do peito DAP através da fórmula 1, para análises posteriores), sendo que cada forófito foi considerado uma Unidade Amostral. Os indivíduos mortos que respeitavam

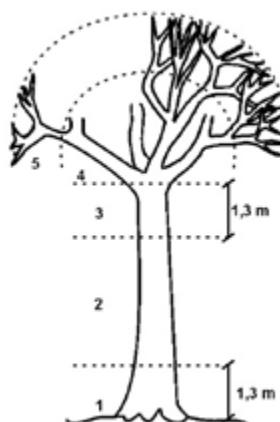
esse padrão também foram considerados como forófitos. As orquídeas foram observadas com auxílio de Binóculos e a sua posição com relação aos quadrantes Norte, Sul, Leste e Oeste foram registrados com auxílio de uma bússola.

Fórmula 1 - Fórmula matemática utilizada para transformação de circunferência a altura do peito (CAP) para diâmetro a altura do peito (DAP), onde $\pi = 3,1416$

$$DAP = \frac{CAP}{\pi}$$

Para avaliar o padrão de distribuição vertical e horizontal de *C. ranifera* os forófitos foram divididos em estratos conforme o método utilizado por Kersten & Kuniyoshi (2009), o qual foi modificado para atender adequações da Floresta Atlântica. Com a divisão da árvore em zonas ecológicas (Figura 2), com base proposto de Braun-Blanquet (1979): 1: Fuste Inferior (FI) (solo até 1,30 m), 2: Fuste intermediário (FIn), 3: Fuste superior (FS) (da base da copa até 1,30 m antes da copa), 4: Copa interna (CI) e 5: Copa externa (CE).

Figura 2 - Esquema didático da divisão do forófito adaptado por Kersten & Kuniyoshi (2009) a partir de Braun-Blanquet (1979), modificado para atender as características da Floresta Atlântica. Sendo assim dividido 1: Fuste Inferior (FI) (solo até 1,30 m), 2: Fuste intermediário (FIn), 3: Fuste superior (FS) (da base da copa até 1,30 m antes da copa), 4: Copa interna (CI) e 5: Copa externa (CE).



Fonte: produção próprio autor (2016)

2.3 ANALISE ESTATÍSTICA

Para análise dos estratos verticais os dados foram calculados com os seguintes parâmetros: frequência relativa (FR) da orquídea sobre o Fuste Inferior ($FRFI = NFI / \Sigma NFI$); frequência relativa da orquídea sobre o Fuste intermediário ($FRFIn = NFIn / \Sigma NFIn$); frequência relativa da orquídea i sobre o Fuste superior ($FRFS = NFS / \Sigma NFS$); frequência relativa da orquídea na copa interna ($FRCI = NCI / \Sigma NCI$) e frequência relativa da orquídea na copa externa ($FRCE = NCE / \Sigma NCE$), onde NFI = número de fustes inferior com ocorrência da orquídea, ΣNFI = somatório do total de fustes inferior amostrados, onde $NFIn$ = número de fustes

intermediário com ocorrência da orquídea, $\Sigma NFIn$ = somatório do total de fustes intermediário amostrados, onde NFS = número de fustes superior com ocorrência da orquídea, ΣNFS = somatório do total de fustes superior amostrados, NCI = número de copas internas com ocorrência da orquídea, ΣNCI = somatório do total copas internas amostradas, NCE = número de copas externas com ocorrência da orquídea, ΣNCE = somatório de copas externas amostradas (Giongo & Waechter, 2004). A razão de abundância, número de orquídeas por número de forófitos (NO/Nfo) foi calculada para verificar quais espécies de forófitos sustentam relativamente um número maior de orquídeas.

Visando o estabelecimento de relações entre a frequência de orquídeas com a frequência dos forófitos, estes foram tratados em classes de diâmetro com amplitude de 5 cm e em classes de altura com amplitude de 1,5 m, sendo empregados testes de correlação de Spearman ($p < 0,05$) para tal finalidade (Krebs 1998). O Teste de χ^2 (Zar, 1999) foi utilizado para avaliar se existe diferença significativa na ocupação do forófito nos diferentes estratos verticais e posição com relação aos pontos cardeais. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa R (R Core Team, 2008).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No estudo conduzido no fragmento em Brunópolis foram amostrados 473 indivíduos de *C. ranifera*, os quais estavam distribuídos em 72 forófitos, apresentando uma proporção de ($NO/Nfo = 6,57$) orquídeas por forófitos (Tabela 1). As espécies forofíticas *Lamanonia ternata* ($Nfo = 34,72\%$); *Cupania vernalis* ($Nfo = 19,4\%$); e a *Casearia decandra* ($Nfo = 9,7\%$) registram as maiores frequências e de orquídeas 42,5%; 15,9% e 14,4% respectivamente (Tabela 1). As três espécies arbóreas amostradas como forófitos apresentam alto valor de importância para FOM, e aparecem no Inventário florestal de Santa Catarina (Meyer et al., 2013). A *L. ternata* é

uma espécie de característica heliófila a sua ocorrência é maior em ambientes perturbados (Cuatrecasas & Smith, 1971).

Corroborando com resultado do presente estudo, Medeiros et al. (2013) em estudo conduzido em uma comunidade de orquídeas epífitas, constatou que os forófitos com maior frequência eram os mesmos com as maiores abundâncias de orquídeas. Fontoura et al. (2009) observou que as espécies arbóreas de maior abundância consequentemente são as que apresentam o maior número de forófitos. Sugerindo assim que pesquisas voltadas a comunidades epífíticas, como as Orchidaceae, podem colaborar no surgimento de proposta para o manejo florestal das espécies que fornecem suporte para as orquídeas (Medeiros & Jardim, 2011).

Tabela 1 - A Proporção (NO/Nfo) de *Coppensia ranifera*. Para cada espécie de forófito; (Nfo) número de forófitos, (NO) número de Orquídeas e percentual de ocorrência de orquídeas para cada espécie forofíticas

Espécie	Família	Nfo	NO	NO/Nfo	% de orquídeas
<i>Lamanonia ternata</i>	Cunoniaceae	25 (34,72%)	201	8,04	42,49
<i>Cupania vernalis</i>	Sapindaceae	14 (19,44%)	75	5,36	15,86
<i>Luehea divaricata</i>	Malvaceae	8 (11,11%)	43	5,38	9,09
<i>Nectandra megapotamica</i>	Lauraceae	8 (11,11%)	23	2,88	4,86
<i>Casearia decandra</i>	Salicaceae	7 (9,72%)	68	9,71	14,38
Indivíduos mortos	-	5 (6,94%)	51	10,20	10,78
<i>Matayba elaeagnoides</i>	Sapindaceae	3 (4,17%)	4	1,33	0,85
<i>Clethra uleana</i>	Clethraceae	2 (2,78%)	8	4,00	1,69
Total		72	473	6,57	100,00

Fonte: produção do próprio autor (2016).

A maior abundância de orquídea por forófito foi apresentado em indivíduos mortos ($NO/Nfo = 10,20$), indicando que troncos e outras superfícies que apresentem condições necessárias podem ser colonizadas por epífitas, como

orquídeas. Oliveira & Arcela (2014) observaram em *Tillandsia tenuifolia* (Bromeliaceae) uma epífita com capacidade de colonizar forófitos, de quaisquer espécies, inclusive indivíduos mortos. Os dados revelam que árvores, mesmo mortas, podem apresentar um papel importante para manutenção de outras espécies não madeiráveis dentro da floresta.

Com os resultados de frequência e razão de abundância de orquídeas a entre os forófitos, as espécies *C. decandra* (NO/Nfo = 9,71) e *L. ternata* (NO/Nfo = 8,04) demonstram ter boas características como forófito. Para uma comunidade orquídeas epífitas Medeiros et al. (2013), encontraram abundância de orquídea por espécie forofítica variando de 3,0 a 47,5. As características ligadas ao tipo de troco ou casca podem interferir nos resultados de proporção de orquídeas por forófitos (Zotz & Vollrath, 2003).

As espécies arbóreas possuem diferenças na capacidade de hospedagem de epífitas (Callaway, 1998), sendo a características da casca e tronco que possibilitam maior colonização (Kersten & Silva, 2001), principalmente de orquídeas (Callaway et al., 2002).

A distribuição vertical de *C. ranifera* se destacou na espécie forofítica *L. ternata* com as maiores frequências registadas em cada estrato vertical, principalmente para o Fuste intermediário (NFIn = 55; FrFIn = 21,24) onde foi registrado o maior valor de ocorrência de orquídeas. Na sequência podemos ressaltar os valores do fuste superior (FS) (NFS = 34; FrFS = 44,16), copa interna (CI) (NCI = 53; FrCI = 72,60) e copa externa (CE) (NCE = 53; FrCE = 94,64), (Tabela 2). *Cupania vernalis* segue o mesmo padrão com o FIn sendo o extrato com uma boa frequência (NFIn = 58; FrFIn = 22,39), (Tabela 2). *C. decandra* o FIn (NFIn = 52; FrFIn = 20,08) (Tabela 2).

Tabela 2 - Espécies de forófitos e seus estratos de distribuição vertical no fragmento na Floresta Ombrófila Mista, em Brunópolis, Santa Catarina, Brasil Nfo, número de forófitos; NFI, número de orquídeas no fuste inferior; NFIn, número de orquídeas no fuste intermediário; NFS, número de orquídeas no fuste Superior; NCI, número de orquídeas na copas internas; NCE, número de orquídeas na copas externas; FrFI, frequência relativa de orquídeas no fuste inferior; FrFIn, frequência relativa de orquídeas no fuste intermédio; FrFS, frequência relativa de orquídeas no fuste superior; FrCI, frequência relativa de orquídeas na copa interna; FrCE, frequência relativa de orquídeas na copa externa

Espécie	Nfo	NFI	FrFI	NFIn	FrFIn	NFS	FrFS	NCI	FrCI	NCE	FrCE
<i>Lamanonia ternata</i>	25	6	75	55	21,24	34	44,16	53	72,6	53	94,64
<i>Cupania vernalis</i>	14	-	-	58	22,39	4	5,19	10	13,7	3	5,36
<i>Luehea divaricata</i>	8	-	-	29	11,2	11	14,29	3	4,11	-	-
<i>Nectandra megapotamica</i>	8	1	12,5	19	7,34	2	2,6	1	1,37	-	-
<i>Casearia decandra</i>	7	1	12,5	52	20,08	9	11,69	6	8,22	-	-
Individuos mortos	5	-	-	36	13,9	15	19,48	-	-	-	-
<i>Matayba elaeagnoides</i>	3	-	-	4	1,54	-	-	-	-	-	-
<i>Clethra uleana</i>	2	-	-	6	2,32	2	2,6	-	-	-	-
Total	72	8		259		77		73		56	

Fonte: produção do próprio autor (2016).

Fazendo a união dos cinco estratos em apenas tronco e copa, a distribuição de *C. ranifera* apresenta a ocorrência de 72,7% e 26,9% respectivamente. Ao contrário deste resultado Medeiros et al. (2013) em estudo com grupo de orquídeas observou o maior número de orquídeas ocorrendo na copa. O mesmo resultado foi observado por Padilha et al. (2015) em trabalho com epífitos vasculares.

Em estudo ecológico com Orchidaceae Rech et al., (2011) observou que *Acianthera recurva* tem preferência em ocupar níveis superiores, diminuindo consideravelmente nos

estratos inferiores, enquanto que para *Acianthera pubescens* foi observada nível de altura intermediário de ocupação, que correspondem ao fuste médio e alto. Parte da estratificação pode ser atribuída a variações microclimáticas da floresta. A variação de temperatura entre o dossel e solo, acaba influenciando diretamente a umidade relativa do ar (Kersten & Waechter, 2011).

Na Tabela 3 são apresentados dados que foram submetidos ao teste de Qui-Quadrado (X^2), onde foi testado a distribuição de orquídeas nas coordenadas geográficas, sugerindo que a hipótese nula para distribuição foi aceita no estrato fuste inferior (FI) (Tabela 3). E na sequência foi avaliado se a distribuição das orquídeas nos cinco estratos verticais em cada quadrante, e neste caso o teste sugere a rejeição da hipótese nula.

Quando consideramos apenas os quadrantes N, S, L e O podemos ressaltar os valores ao Norte com 40,6% das orquídeas registradas, seguido de Leste com 20,1%; Sul com 19,9% e Oeste com 19,5% (tabela 3). No trabalho conduzido por Rech et al. (2011) foi verificado maior incidência das espécies nas faces Sul e Leste.

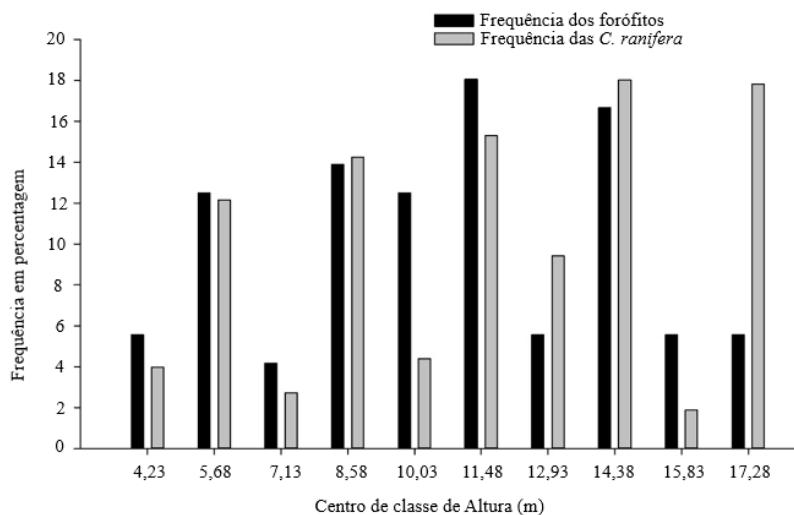
Tabela 3 - Tabela com os valores obtidos através do teste do Qui-quadrado (Probabilidade de 5 %), mostrando a diferença de ocupação dos forófitos para a distribuição nas quatro coordenadas geográficas em relação aos cinco estratos verticais.

Estratos vertical	Coordenadas				Total	X^2	GL
	N	S	L	O			
FI	5 (1,1%)	1 (0,2%)	0	2 (0,4%)	8 (1,7%)	7	3
FIn	93 (19,7%)	58 (12,3%)	57 (12,1%)	51 (10,8%)	259 (54,8%)	16,88	3
FS	51 (10,8%)	10 (2,1%)	9 (1,9%)	7 (1,5%)	77 (16,3%)	70,06	3
CI	25 (5,3%)	14 (3,0%)	25 (5,3%)	9 (1,9%)	73 (15,5%)	10,67	3
CE	18 (3,8%)	11 (2,3%)	4 (0,9%)	23 (4,9%)	56 (11,5%)	14,71	3
Total	192 (40,6%)	94 (19,9%)	95 (20,1%)	92 (19,5%)			
X^2 calc.	126,33	107,17	114	85,39			
GL	4	4	4	4			

Fonte: produção do próprio autor (2016).

O teste de Correlação de Spearman demonstrou correlação positiva ($r_s=0,25$) entre as Classes de altura e a distribuição das *C. ranifera*. Onde alguns dos centros de Classes de Altura se destacam com as maiores frequências de forófitos e de orquídeas, sendo eles (14,38m) 18,0% do total de orquídeas e 16,7% do total de forófitos; (17,28m) com 17,8% das *C. ranifera* e 5,6% dos forófitos;(11,48m) com 15,3% das orquídeas e 18,1% dos forófitos; (8,53m) com 14,3% das orquídeas e 13,9% dos forófitos (Figura 3).

Figura 3 - Frequência relativa de alturas dos forófitos e distribuição de *C. ranifera* em relação ao centro das Classes de Alturas em metros



Fonte: produção do próprio autor (2016)

Kersten & Silva (2002) menciona que as condições de cada floresta, quanto a sua organização podem influenciar quantidade de luz que incide em seu interior, propiciando a ocorrência das epífitas. A correlação entre a altura dos forófitos e frequência de orquídeas no fuste aponta que a influência desses fatores abióticos pode estar colaborando para esses

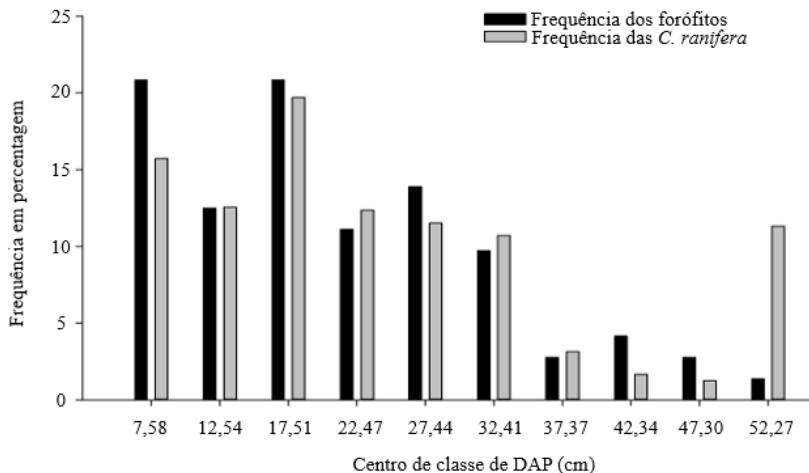
resultados, como por exemplo a umidade ser maior, abaixo das copas evitando o estresse hídrico, que segundo Benzing (1990) é um fator limitante para epífitos.

Para as classes de DAP a maior frequência de forófitos e de orquídeas foram registradas nos centros de classes (17,5cm) com 19,7% das orquídeas e 20,8% dos forófitos; e (7,6cm) com 15,7% das orquídeas e 20,8% dos forófitos (Figura 4). O teste de Correlação de Spearman demonstrou ($r_s = -0,88$; $p =$; $n =$), que a correlação entre as classes diamétricas e a distribuição da *C. ranifera*. Com bromélias epífíticas Hoeltgebaum et al. (2013) obteve valores de correlação positiva na ocorrência de bromélias e DAP dos forófitos. Em uma Floresta de várzea Medeiros et al. (2014) encontram os maiores valores de abundância de orquídeas correlacionadas a forófitos de grande diâmetro. Por outro lado, a correlação negativa demonstra que área mesmo depois de ter sofrido com processo degradação tem buscado o restabelecimento da vegetação, e acaba dando suporte para as orquídeas.

O DAP das árvores demonstra o tempo em que esses forófitos estão disponíveis para colonização, consequentemente a disponibilidade área para fixação. Alguns estudos demonstram a relação da altura e diâmetro dos forófitos com diversidade abundância de epífitas (Martin et al., 2004; Wolf, 2005; Bonnet et al., 2007).

Dias (2009) demonstra com valores positivos entre abundância epífita e DAP onde constatou que áreas com maior número de árvores tem maior capacidade para hospedagem de epífitas.

Figura 4 - Frequência relativa de DAP dos forófitos e distribuição de *C. ranifera* em relação aos Centros de Classes de DAP em cm



Fonte: produção do próprio autor (2016).

4 CONCLUSÕES

A ocorrência de *Coppensia ranifera* apresenta maior frequência no estro vertical fuste intermediário em relação as copas e na face norte indicando que neste setor, fatores ambientais estão influenciando nos processos de colonização. As classes de altura nesta área não têm demonstrado grande influência mesmo com correlação positiva para a frequência orquídea e forófitos, porem para a classe diamétrica foi verificado correlação negativa indicando que a colonização ocorre nos forófitos que estão mais aptos e disponíveis para serem ocupados. Os resultados desse trabalho sugerem que mesmo em áreas fragmentadas e antropizadas podem apresentar potencial para abrigar populações de *C. ranifera*.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adhikari YP, Fischer HS, Fischer A. Host tree utilization by epiphytic orchids in different land-use intensities in Kathmandu Valley, Nepal. *Plant Ecology* 2012; 213(9): 1393-1412.
- Barros F, Vinhos F, Rodrigues VT, Barberena FFVA., Fraga CN, Pessoa EM *et al.* Orchidaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. *Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. 2016.
- Benzing, DH. *Vascular Epiphytes*. New York: Cambridge University Press; 1990.
- Bianchi, JS, Michelon C, Kersten RA. Epífitas vasculares de uma área de ecótono entre as Florestas Ombrófilas Densa e Mista, no Parque Estadual do Marumbi, PR. *Estudos de Biologia* 2012; 34(82): 37-44.
- Boakes EH, Mace GM, McGowan PJ, Fuller RA. Extreme contagion in global habitat clearance. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 2010; 277(1684): 1081-1085.
- Bonnet A, Queiroz MD, Lavoranti OJ. Relações de bromélias epífíticas com características dos forófitos em diferentes estádios sucessionais da Floresta Ombrófila Densa, Santa Catarina. *Brasil. Floresta* 2007; 37(1): 83-94.
- Braun-Blanquet J. *Fitossociología: bases para el estudio de las comunidades vegetales*. Madrid: H. Blume, 1979.
- Brasil. Ministério do desenvolvimento agrário. *Plano Territorial de Desenvolvimento Rural Sustentável do Planalto Catarinense*, 2010. Acesso em: 10 de abr. 2016. Disponível em: <http://sit.mda.gov.br/download.php?ac=obterDadosBas&m=4204806>.

Bremer B, Bremer K, Chase M, Fay M, Reveal J, Soltis D, et al. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 2009.

Callaway RM. Are positive interactions species-specific? *Oikos* 1998; 82(1):202-207.

Callaway RM, Reinhart KO, Moore GW, Moore DJ, Pennings SC. Epiphyte host preferences and host traits: mechanisms for species-specific interactions. *Oecologia* 2002; 132(2): 22-230.

Climate. *Dados climáticos para cidades mundiais*. Acesso em: 05 abr. 2016. Disponível em: <http://pt.climate-data.org>.

Costa NCF. *Estrutura genética espacial, sistema de reprodução e fluxo de pólen em Araucaria angustifolia (Bertol.) Kuntze em pequenas populações remanescentes em paisagem de campo e plantios florestais*. Lages: Universidade do Estado de Santa Catarina; 2014.

Cuatrecasas J, Smith LB. Cunoniaceas. In: Reitz R, editor. *Flora Ilustrada Catarinense*. Herbário Barbosa Rodrigues: Itajaí; 1971.

Docha-Neto A. Sinopse Taxonômica do Gênero *Coppensia* Dumort.: descrição atualizada e chave das espécies. *Orchidstudium - International Journal of Orchid Study* 2007; 2(1): 14-27.

Flora do Brasil. *Orchidaceae Bioma Mata Atlântica*. Acesso em: 19 mar. 2016. disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br>.

Fontoura T, Rocca MA, Schilling AC, Reinert F. Epífitas da floresta seca da Reserva Ecológica Estadual de Jacarepiá, sudeste do Brasil: relações com a comunidade arbórea. *Rodriguésia* 2009; 60(1): 171-185.

Freiberg M. Spatial distribution of vascular epiphytes on three emergent canopy trees in French Guiana. *Biotropica* 1996; 28(3): 345-355.

Galdino Júnior RF, Mantovani C, Pivetta KFL, Macedo Lemos EG. Crescimento *in vitro* e aclimatização de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae) com carvão ativado sob dois espectros luminosos. *Ciência Rural* 2012; 42(5): 801-807.

Gentry AH, Dodson CH. Diversity and biogeography of neotropical vascular epiphytes. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 1987; 74(2): 205-233.

Giongo C, Waechter JL. Composição florística e estrutura comunitária de epífitos vasculares em uma floresta de galeria na Depressão Central do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Botânica* 2004; 27(3), 563-572.

Guimarães LRS. *Flora da Serra do Cipó (Minas Gerais, Brasil): Orchidaceae-subfamília Vanilloideae e subtribos Dendrobiinae, Oncidiinae, Maxilariinae (subfamília Epidendroideae), Goodyerinae, Spiranthinae e Cranichidinae (subfamília Orchidoideae). SP, Brasil. [Dissertação]*. São Paulo: Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente; 2010.

Hambler C, Henderson P A, Speight MR. Extinction rates, extinction-prone habitats, and indicator groups in Britain and at larger scales. *Biological Conservation* 2011; 144(2): 713-721.

Kersten RDA, SILVA SM. Composição florística e estrutura do componente epífítico vascular em floresta da planície litorânea na Ilha do Mel, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 2001; 24(2): 213-226.

Kersten, RA, Silva SM. Florística e estrutura do componente epífítico vascular em floresta ombrófila mista aluvial do rio Barigüi, Paraná, Brasil. *Revista brasileira de Botânica* 2002; 25(3): 259-267.

Kersten RA, Kuniyoshi YS. Conservação das florestas na bacia do alto Iguaçu, Paraná–Avaliação da comunidade de epífitas vasculares em diferentes estágios serais. *Floresta* 2009; 39(1): 51-66.

Kersten RA, Waechter JL. Florística e Estrutura das epífitas vasculares em zona ecotonal entre as Florestas Ombrófilas Mista e Densa, vertente oeste da Serra do Mar paranaense. In: Felfili JM, Eisenlohr PV, Melo MMRF, Andrade LA, Meira Neto JAA, editores. *Fitossociologia no Brasil: métodos e estudos de caso*. Viçosa, Editora UFV; 2011.

Koeppen W. editor. *Climatología: Con un estudio de los climas de la tierra*. Mexico: Fondo de cultura económica, 1948.

Krebs C.J. Ecological Methodology, 2nd ed. Ed. Addison Wesley – Longmann, Menlo Park, 1998.

Martin PH, Sherman RE, Fahey TJ. Forty years of tropical forest recovery from agriculture: structure and floristics of secondary and old-growth riparian forests in the Dominican Republic. *Biotropica* 2014; 36(3), 297-317.

Medeiros TDS, Jardim MAG. Distribuição vertical de orquídeas epífitas na área de proteção ambiental (APA) Ilha do Combu, Belém, Pará, Brasil. *Revista brasileira de Biociências* 2011; 9(1): 33-38.

Medeiros TDS, Jardim MAG, Quaresma AC. Composição florística e estrutura da comunidade de orquídeas epífitas na APA Ilha do Combu, Pará, Brasil. *Biota Amazônia* 2013; 3(3): 23-33.

Medeiros TDS, Jardim MAG, Quaresma AC. Forófitos preferenciais de orquídeas epífitas na APA Ilha do Combu, Belém, Pará, Brasil. *Biota Amazônia* 2014; 4(3): 1-4.

Meyer L, Gasper AL, Sevignani L, Schorn LA, Vibrans AC, Lingner DV, et al. Regeneração natural da Floresta Ombrófila Mista em Santa Catarina. In: Vibrans AC et al., Editor. *Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina: Floresta Ombrófila Mista*. Blumenau: Edifurb; 2013.

Ministro do Meio Ambiente. Instrução Normativa N°6 Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção. Brasília; 2008.

Nascimento ART, Longhi SJ, Brena DA. Estrutura e padrões de distribuição espacial de espécies arbóreas em uma amostra de Floresta Ombrófila Mista em Nova Prata, RS. *Ciência Florestal* 2001; 11(1): 105-119.

Oliveira RP, Arcela V. Distribuição vertical e valor de importância das epífitas vasculares da Reserva Biológica do Guará, Brasília, DF. *Heringiana* 2014; 8(1): 20-31.

Padilha PT, Santos Junior R, Oliveira LC, Santos R, Citadini-Zanette V. Comunidade epífita vascular do Parque Estadual

da Serra Furada, sul de Santa Catarina, Brasil. *Ciência e Natura* 2015; 37(1): 64-78.

Parker GG. Structure and microclimate of forest canopies. In: Lowman MD, Nadkarni NM, editores. *Forest canopies*. San Diego: Academic Press; 1995.

Parra-Tabla V, Vargas CF, Naval C, Calvo LM, Ollerton J. Population status and reproductive success of an endangered epiphytic orchid in a fragmented landscape. *Biotropica* 2011; 43(5): 640-647.

Queiroz VVD, Proença CEB, Bianchetti LDB. Subtribe Oncidiinae Benth. (Orchidaceae Juss.) in Distrito Federal, Brazil. *Hoehnea* 2015; 42(4): 663-686.

R Core Team. *R Foundation for Statistical Computing*. Vienna, Austria, 2008.

Raventós J, Mujica E, Wiegand T, Bonet A. Analyzing the spatial structure of *Broughtonia cubensis* (Orchidaceae) populations in the dry forests of Guanahacabibes, Cuba. *Biotropica* 2011; 43(2): 173-182.

Rech AR, Rosa YBCJ, Rosa-Junior EJ. Inventory and ecologic features of Orchidaceae in the Rio Dourados riparian Forest, Dourados-MS. *Revista Árvore* 2011; 35(3): 717-724.

Ribeiro MC, Martensen AC, Metzger JP, Tabarelli M, Scarano F, Fortin MJ. The Brazilian Atlantic Forest: a shrinking biodiversity hotspot. In: Zachos FE, Habel JC, editores. *Biodiversity hotspots*. Springer, Berlin: Heidelberg; 2011.

- Schneiders D, Pescador R, Booz MR, Suzuki RM. Germinação, crescimento e desenvolvimento *in vitro* de orquídeas (*Cattleya* spp., Orchidaceae). *Ceres* 2015; 59 (2): 185-191.
- Siqueira CE, Zanin A, Neto LM. Orchidaceae in Santa Catarina: Update, geographic distribution and conservation. *Check List* 2014; 10(6): 1452-1478.
- Steege HT, Cornelissen JHC. Distribution and ecology of vascular epiphytes in lowland rain forest of Guyana. *Biotropica* 1989; 21(4): 331-339.
- Stpiczyńska M, Davies KL, Pacek-Bieniek A, Kamińska M. Comparative anatomy of the floral elaiophore in representatives of the newly re-circumscribed Gomesa and Oncidium clades (Orchidaceae: Oncidiinae). *Annals of botany* 2013; 112(5): 839-854.
- Tabarelli M, Pinto LP, Silva JMC, Hirota MM, Bedê LC. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. *Megadiversidade* 2005; 1(1): 132-138.
- Tremblay RL, Zimmerman JK, Lebrón L, Bayman P, Sastre I, Axelrod F et al. Host specificity and low reproductive success in the rare endemic Puerto Rican orchid *Lepanthes caritensis*. *Biological Conservation* 1998; 85(3): 297-304.
- Vibrans AC, Sevgnani L, Lingner DV, Gasper AL, Sabbagh S. Inventário florístico florestal de Santa Catarina (IFFSC): aspectos metodológicos e operacionais. *Pesquisa Florestal Brasileira* 2010; 30(64): 291-302.

- Vibrans AC, Sevegnani L, Gasper AL, Lingner DV, editores. *Diversidade e Conservação dos Remanescentes Florestais*. Blumenau: Edifurb, 2012.
- Vibrans AC, Bonnet A, Caglioni E, Gasper ALde, Lingner DV, editores. *Floresta Ombrófila Mista*. Blumenau: Edifurb; 2013a.
- Vibrans AC, Bonnet A, Caglioni E, Gasper ALde, Lingner DV, editores. *Epífitos Vasculares da Floresta Ombrófila Densa*. Blumenau: Edifurb; 2013b.

Waechter JL. Epifitismo vascular em uma floresta de restinga do Brasil subtropical. *Revista Ciência e Natura* 1998; 20(4): 43-66.

Wolf JH. The response of epiphytes to anthropogenic disturbance of pine-oak forests in the highlands of Chiapas, Mexico. *Forest Ecology and Management* 2005; 212(1): 376-393.

Zar J.H. *Biostatistical analysis*. New Jersey, Prentice Hall. 1999.

Zotz G. Vollrath B. The epiphyte vegetation of the palm Socratea exorrhiza-correlations with tree size, tree age and bryophyte cover. *Journal of Tropical Ecology* 2003; 19(01): 81-90.

CAPÍTULO III

PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE *Coppensia ranifera* (LINDL.) F. BARROS & V. T. RODRIGUES (ORCHIDACEAE) ATRAVÉS DA TÉCNICA DE CAMADA FINA

RESUMO

O cultivo *in vitro* tem sido empregado para a propagação e conservação de orquídeas. Estabeleceu-se um método eficiente de propagação *in vitro* para *Coppensia ranifera* utilizando a técnica de camada fina longitudinal (TCL). Foram utilizados protocormos germinados *in vitro* seccionados longitudinalmente (2 mm) em meio Knudson C líquido estacionário e gelificado, suplementado com thidiazuron (TDZ) (1,0 a 8,0 μ M) para a formação de Estruturas Semelhantes a Protocormos (ESP). Para a regeneração de plântulas foi utilizado meio de cultura isento de regulador de crescimento vegetal. A formação de ESP ocorre por via direta, sem calo. A utilização de meio de cultura líquido é mais eficiente do que o meio gelificado com relação ao número de ESP formado por explante. Em meio líquido de cultura o maior percentual de formação e o maior número de ESP por explante ocorre com a adição de 4 μ M de TDZ. A eficiência (percentual de conversão) na regeneração de plântulas em meio gelificado é maior do que em meio líquido.

Palavras-chave: Orquídea Epífita. Micropropagação. Estrutura Semelhante a Protocormo.

ABSTRACT

The *in vitro* culture has been used for the propagation and conservation of orchids. It sets up an efficient method of *in vitro* propagation for *Coppensia ranifera* using the technique of

thin longitudinal cell layer (ITCL). We were used protocorms germinated *in vitro* longitudinally sectioned (2 mm) in medium Knudson C stationary liquid and semi-solid, supplemented with thidiazuron (TDZ) (1.0 and 8.0 mM) for the formation of structures Similar to protocorms (ESP). For regeneration of plantlets was used culture medium free of a plant growth regulator. The ESP formation occurs by direct route, without callus. The use of the liquid culture medium is more efficient than the semi-solid medium with respect to the number of ESP formed per explant. In liquid culture medium the highest percentage of formation and more ESP per explant occurs with the addition of 4 uM TDZ. The efficiency (conversion percentage) in plantlet regeneration medium is greater than semi-solid in a liquid medium.

Key-words: Epiphytic Orchid. Micropropagation. Protocorm-Like Body.

1 INTRODUÇÃO

A Floresta Ombrófila Mista, também denominada de Floresta com Araucárias, representa uma importante tipologia florestal do Bioma Mata Atlântica, a qual vem sendo ocupada há décadas, em sua maioria por pequenos e médios produtores rurais (FIORENTIN *et al.*, 2015). Atualmente o Bioma encontra-se com 12% da extensão original (Ribeiro *et al.*, 2011). A extensa área de abrangência deste tipo fitogeográfico nos Estados do Sul do Brasil evidencia a sua importância na conservação dos recursos florestais (CALLEGARO *et al.*, 2015). A Floresta Ombrófila Mista possui uma estrutura complexa, sendo composta por espécies com elevado valor comercial de produtos madeireiros e não madeireiros (NASCIMENTO *et al.*, 2001). Dentre as espécies com interesse destacam-se as orquídeas em razão da elevada beleza e exuberância de suas flores (GALDIANO JUNIOR *et al.*, 2012).

Orchidaceae é uma das famílias botânicas com a maior biodiversidade dentre as angiospermas, com cerca de 26.454 espécies distribuídas em 735 gêneros (CHASE *et al.*, 2015). Com grande ocorrência nas regiões neotropicais (PINHEIRO *et al.*, 2004). No Brasil, existem registradas 2539 espécies de orquídeas (BARROS *et al.*, 2016) e em Santa Catarina cerca de 560 espécies (SIQUEIRA *et al.*, 2014), dentre elas a *Coppensia ranifera* (Lindl.) F. Barros & V. T. Rodrigues (sinônimo *Gomesa ranifera* (Lindl) M. W. Chase & N. H. Williams) (BARROS *et al.* 2016). A espécie *C. ranifera* tem ocorrência na Floresta Ombrófila Mista e regiões de ecótonos com Floresta Ombrófila Densa (VIBRANS *et al.*, 2013; SIQUEIRA *et al.*, 2014). Na literatura não existem estudos com propagação de *C. ranifera*. De acordo com Martinelli e Moraes (2013), as espécies de Orchidaceae estão entre as famílias com maior risco de extinção e de interesse para a conservação da Flora do Brasil.

Nos últimos anos, a propagação de orquídeas tem utilizado técnicas de cultivo *in vitro* para o estudo de aspectos fisiológicos ligados ao crescimento e desenvolvimento (SCHNEIDERS *et al.*, 2012), bem como método de conservação *ex situ* para diminuir o risco de extinção (FERREIRA; SUZUKI, 2008). Os primeiros estudos com o cultivo *in vitro* de orquídeas iniciaram com as gemas e segmentos nodais como fontes de explantes (ARDITTI, 2008). Entretanto, a propagação massal foi obtida a partir do uso de explantes para a formação das estruturas semelhantes à protorcormos (ESPs), originalmente iniciado por Morel (1960) no cultivo de ápices caulinares de *Cymbidium*, revolucionando a industrialização nas biofábricas de orquídeas (CHUGH, 2009).

Para vários pesquisadores as Estruturas Semelhantes a Protorcormos são embriões somáticos (HOSSAIN *et al.*, 2013; TEIXEIRA da SILVA, 2013; LEE *et al.*, 2013), ou seja, a formação das ESPSs tem como etapa inicial a embriogênese

somática (ARDITTI; ERNST, 1993; BEGUM *et al.*, 1994; ZHAO *et al.*, 2008).

Dentre os reguladores de crescimento vegetal utilizados como indutores, as citocininas 6-benziadenina (BA) e o thidiazuron (TDZ) ativam os processos de regeneração *in vitro* em orquídeas (WU *et al.*, 2012). Para a indução das estruturas semelhantes à protocormos diversos explantes tem sido empregado, tais como folhas (WU *et al.*, 2012), gemas apicais (MONDAL *et al.*, 2013), e os próprios ESPs (NAING *et al.*, 2011; LIAO *et al.*, 2011). A técnica de camada fina conhecida como “thin cell layer (TCL) ” na indução de ESPs foi originalmente descrita por Tran Than Van (1973), consistindo no seccionamento fino (1 a 2 mm) de diversos órgãos ou estruturas vegetais como folhas, raízes, gemas apicais e axilares, embriões e protocormos de modo longitudinal (lTCL) ou transversal (tTCL) em meio de cultura (TEIXEIRA da SILVA, 2013). O uso de TCL possibilita a exposição de maior superfície de contato de diversos tecidos ou células de um tecido com o meio de cultura indutor, propiciando uma maior taxa proliferativa (TEIXEIRA da SILVA, 2013).

A técnica “thin cell layer” tem sido usada para diversas espécies de orquídeas no cultivo *in vitro*, como em *Cymbidium* spp. (TEIXEIRA da SILVA *et al.*, 2005; TEIXEIRA da SILVA *et al.*, 2006; TEIXEIRA da SILVA; TANAKA, 2009; HOSSAIN *et al.*, 2010), *Dendrobium gratiosissimum* (JAIPHET; RANGSAYATORN, 2010), *Coelogyne cristata* (NAING *et al.*, 2011), *Paphiopedilum* (LIAO *et al.*, 2011), *Renanthera* Tom Thumb ‘Qilin’ (WU *et al.*, 2012), *Brasiliidium forbesii* (GOMES *et al.*, 2015).

O objetivo do trabalho foi estabelecer um protocolo de indução de estrutura semelhante a protocormo (ESP) utilizando-se da técnica de camada fina (TCL) de protocormos, bem como, regenerar plântulas *in vitro* de *Coppensia ranifera*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Cápsulas em ponto de maturação fisiológica de *C. ranifera* foram coletadas, no mês de junho, de indivíduos em população natural (Figura 1A) em uma área fragmentada de Floresta Ombrófila Mista no município de Brunópolis, SC. No Laboratório, as cápsulas tiveram suas superfícies desinfectadas inicialmente submergindo-as por 2 min em solução de etanol 70%, em seguida por 15 min em solução de hipoclorito de sódio 2,5%, seguida de tríplice lavagem em água destilada e esterilizada.

Em câmara de fluxo laminar as cápsulas foram excisadas, as sementes foram removidas manualmente e inoculadas em meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962), isento de regulador de crescimento vegetal, suplementado com 30 g.L⁻¹ de sacarose e 6 g.L⁻¹ de agar Vetec® para a germinação assímbiotica *in vitro*.

Após 60 dias, os protocormos desenvolvidos foram submetidos a técnica da camada fina (TCL), consistindo no seccionamento longitudinal (2 mm) com auxílio de lâmina de aço (bisturi) (Figura 1B) e transferidos para meio de indução de Estrutura Semelhante a Protocormo (ESP), com o lado das secções para baixo em contato com o meio de cultura. O meio de cultura utilizado foi composto por sais de Knudson c (Kc) (KNUDSON, 1946), suplementado com 30 g.L⁻¹ de sacarose, diferentes concentrações de thidiazuron (TDZ) 0; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 μ M em meio líquido estacionário e meio gelificado (com 6 g.L⁻¹ de agar Vetec®). A cada 30 dias foram realizados subcultivos com os mesmos meios de cultura utilizados. Aos 70 dias de cultivo, as análises foram realizadas consistindo no percentual de explantes responsivos, e número de ESPs formados por explante.

Figura 1 - *Coppensia ranifera*. A. Indivíduo adulto em área natural com cápsulas maduras. B. Protocormos germinados *in vitro* utilizados como fonte de explante através da técnica TCL (linha tracejada). Barra: A= 5,0 cm; B= 5,0 mm



Fonte: produção do próprio autor (2016).

ESP formadas foram transferidas para meio de regeneração de plântulas, composto pelos sais de Kc (KNUDSON, 1946), suplementado com 30 g.L^{-1} de sacarose, 6 g.L^{-1} de agar Vetec®, e isento de regulador de crescimento vegetal. Após 90 dias de cultivo, foram avaliados o número de plântulas regeneradas por explante e o percentual de conversão de plântulas.

Os cultivos foram realizados em frascos de vidro com tampa de plástico de troca gasosa tipo Biosama®, com capacidade de 300 mL, contendo 20 mL de meio de cultura. Os meios de cultura tiveram seu pH ajustado para 5,8 com 1 M de NaOH e HCl antes da autoclavagem a 121 °C por 20min a 1,3 ATM. As culturas foram incubadas em sala de crescimento a 25 ± 2 °C, 16 h de fotoperíodo, com lâmpadas fluorescentes brancas de densidade de fluxo de fôtons de $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

O experimento de indução foi organizado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 5 (consistências do meio X concentrações), com seis repetições para cada tratamento, sendo cada repetição

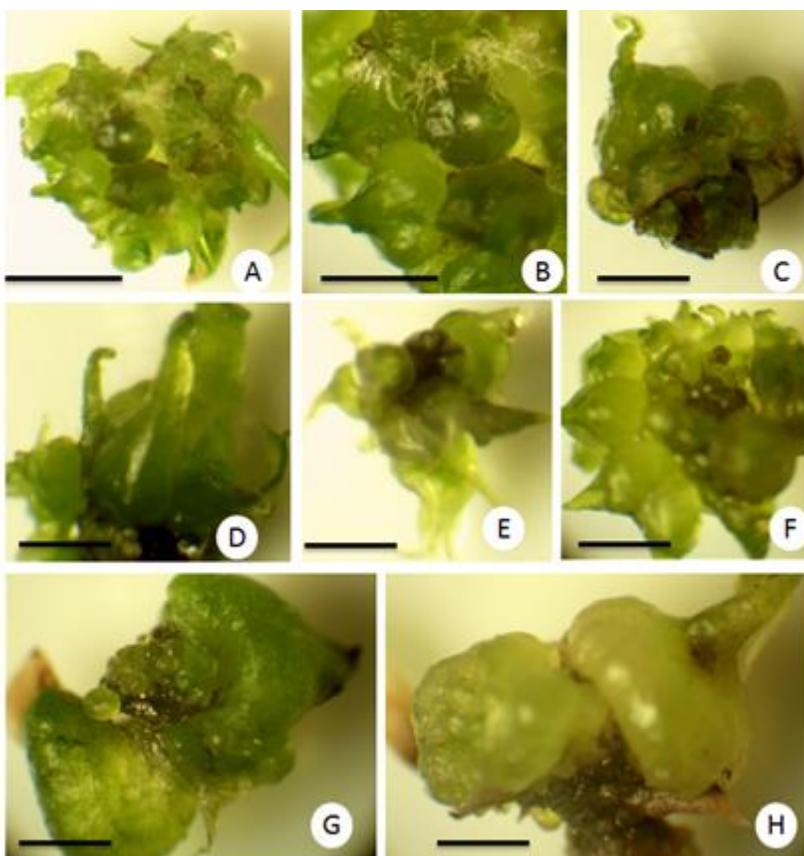
composta por dez explantes. Os resultados foram avaliados quanto a normalidade dos dados pelo teste de Shapiro-Wilk, e então submetidos análise da variância (ANOVA) com o teste SNK ($P < 0,05$), as variáveis também foram submetidas à análise por regressão polinomial usando o programa estatístico Assistat 7.7 betas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O padrão de desenvolvimento de estrutura semelhante a protocormo (ESP) foi semelhante em todos os tratamentos, inclusive na ausência de regulador de crescimento vegetal. Protuberâncias verdes amareladas emergiram gradualmente a partir do explante com três semanas de cultivo, de modo direto, ou seja, sem a formação de calo. ESP globulares foram observadas na superfície do TCL do explante a partir da quarta semana e essas foram aumentando de tamanho e desenvolvendo-se em plântula posteriormente. A formação de ESP repetitiva, ou seja, formação de ESP a partir de ESP no cultivo também foi observada.

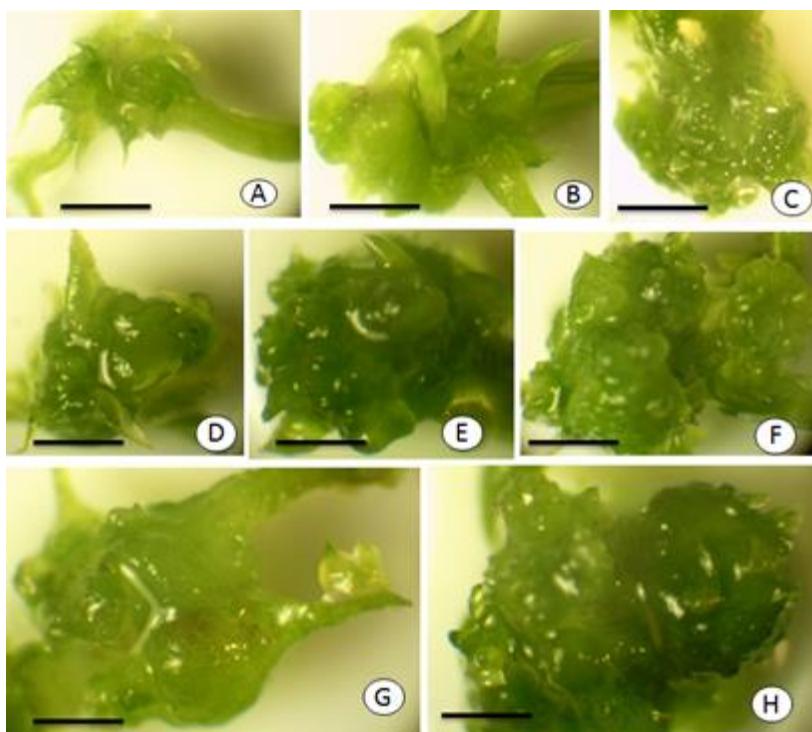
A formação de ESP ocorreu em todos os tratamentos na presença e ausência de thidiazuron (TDZ), e em ambos os meios de indução líquido e gelificado (Figuras 2 e 3). A análise estatística do percentual de indução de ESP comparando o meio líquido e o meio gelificado revelou a inexistência de diferenças significativas ($p \leq 0,05$). A análise de regressão polinomial entre o percentual de indução de ESP e as diferentes concentrações de TDZ (Figura 4) em meio líquido indicou que a formação de ESP apresenta valor crescente até 4 μM de TDZ, acima desse valor observa-se redução no percentual expresso por meio de uma equação quadrática com coeficiente de determinação (r^2) de 0,64.

Figura 2 - Indução de Estrutura Semelhante a Protocormo (ESP) a partir da técnica de Camada Fina Celular (TCL) de protocormos de *Coppensia ranifera* em meio gelificado. A-B) Formação de ESP com 0,0 μ M TDZ; C) Formação de ESP com TDZ 1,0 μ M; D-E) Formação de ESP com TDZ 2,0 μ M; F) Formação de ESP com TDZ 4,0 μ M; G-H) Formação de ESP com TDZ 8,0 μ M. Barra: A-C-D-E-G-H: 3,0 mm; B-F: 5,0 mm.



Fonte: produção do próprio autor (2016).

Figura 3 - Indução de Estrutura Semelhante a Protocormo (ESP) a partir da técnica de Camada Fina (TCL) de protocormos de *Coppensia ranifera* em meio de cultura líquido. A-B) Formação de ESP com TDZ 0,0 μ M; C-D) Formação de ESP com TDZ 1,0 μ M; E) Formação de ESP com TDZ 2,0 μ M; F) Formação de ESP com TDZ 4,0 μ M; G-H) Formação de ESP com TDZ 8,0 μ M. Barra: A-B-C: 3,0 mm; D-E-F-G-H: 5,0 mm.



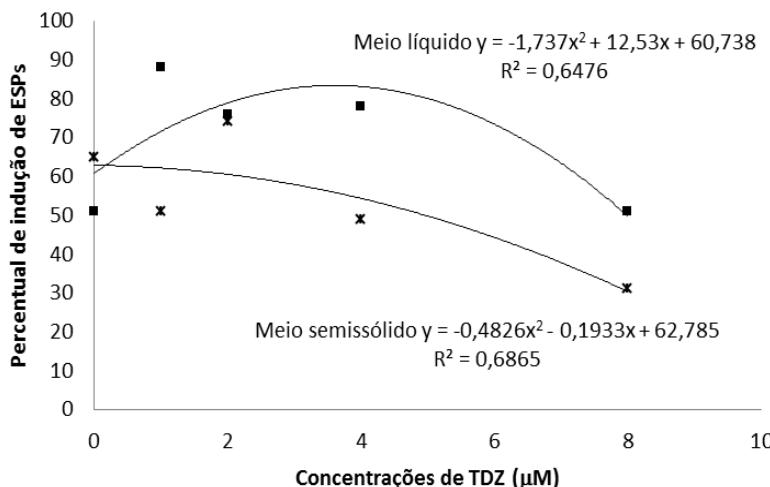
Fonte: produção do próprio autor (2016).

Em meio de cultura gelificado, a adição de regulador de crescimento TDZ em concentrações crescentes promoveu a redução gradual no percentual de indução de ESP (Figura 4), expresso por equação quadrática com coeficiente de determinação (r^2) de 0,68. Os valores de r^2 para o parâmetro testado e teores de regulador de crescimento em *C. ranifera*

expressam confiabilidade na trajetória, uma vez que para sistemas *in vitro* se consideram elevados os valores de r^2 compreendidos entre 0,5 e 0,9 (COMPTON, 1994).

O TDZ com mecanismo de ação hormonal semelhante às citocininas tem sido usado com sucesso na formação de ESP em orquídeas (MALABADI *et al.*, 2009; MAYER *et al.*, 2010). Os resultados obtidos com *C. ranifera* foram semelhantes aos observados em ITCL de protocormos de *Brasilidium forbesii*, inclusive com formação de ESP nos tratamentos isentos de regulador de crescimento (GOMES *et al.*, 2015).

Figura 4 - Respostas fisiológicas do percentual de indução de estrutura semelhante a protocormo (ESP) de *Coppensia ranifera* em diferentes concentrações de thidiazuron (TDZ) em meio de cultura líquido e gelificado.

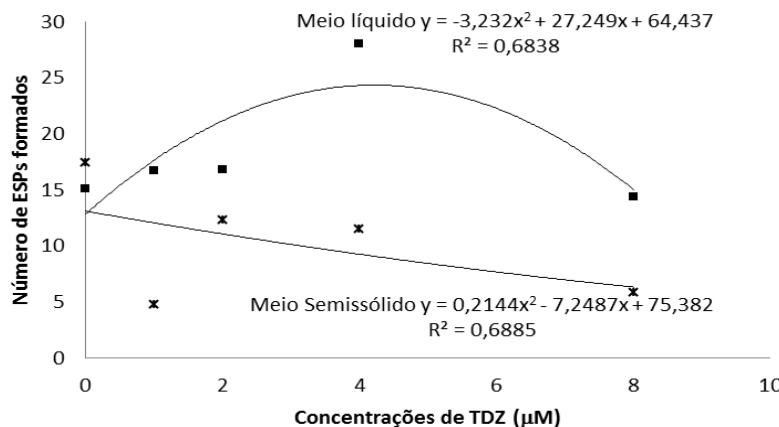


Fonte: produção do próprio autor (2016).

A análise estatística do número de ESP formado comparando o meio líquido e o meio gelificado revelou a existência de diferenças significativas ($p \leq 0,05$), sendo o maior

número formado em meio de cultura líquido (18,2) e o menor em meio gelificado (10,4). De acordo com Pullman e Skryabina (2007), em sistemas de cultura em meio líquido existe aumento da superfície de contato com o explante, aumentando a difusão e a absorção de moléculas. Em *C. ranifera*, o uso de meio de cultura líquido deve ter promovido o aumento da superfície de contato com os TCL de protocormos e favoreceu o desenvolvimento do maior número de ESP nos explantes. Resultados semelhantes com maior formação de ESP em indução líquido também foram descritos em *Cymbidium giganteum* em comparação ao meio de cultura gelificado (HOSSAIN *et al.*, 2010).

Figura 5 - Respostas fisiológicas do número de estrutura semelhante a protocormo (ESP) de *Coppensia ranifera* em diferentes concentrações de thidiazuron (TDZ) em meio de cultura líquido e gelificado



Fonte: produção do próprio autor (2016)

A ausência do uso de TDZ promoveu a formação de ESP em ambos os meios de indução (líquido e gelificado). Em *Cymbidium giganteum*, ESP também foram formados na ausência de reguladores de crescimento (HOSSAIN *et al.*,

2010). Resultados semelhantes foram descritos para a formação de ESP em *Brasiliidium forbesii* a partir de TCL de protocormos, demonstrando inexistência de diferenças significativas entre as diferentes concentrações de regulador, inclusive na ausência (GOMES *et al.*, 2015). Resultados contrastantes foram descritos para algumas espécies de orquídeas, nas quais a morte dos explantes ocorre após duas ou três semanas em meio de cultura isento de regulador (ZHAO *et al.*, 2007; RANGSAYATORN, 2009).

Tabela 1 - Tabela Conversão de plântulas a partir de ESP via TCL de *Coppensia ranifera* induzidos em meio de cultura líquido e gelificado em diferentes concentrações de TDZ (Thidiazuron).

Meio de Indução (□M)	Meio de cultura líquido		Meio de cultura gelificado	
	Nº de plântulas regeneradas/explante	% Conversão em plântula	Nº de plântulas regeneradas/explante	% Conversão em plântula
TDZ 0,0	3,0 a	19,7	3,9 a	22,3
TDZ 1,0	1,7 c	10,2	2,7 bc	56,8
TDZ 2,0	2,4 ab	14,4	3,6 ab	29,5
TDZ 4,0	2,6 ab	9,2	2,4 c	21,1
TDZ 8,0	2,2 b	15,6	3,1 ab	54,2
Média	2,4 A	13,8	3,1 A	36,7

As médias seguidas de mesma letra maiúscula na horizontal e minúscula na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo Teste SNK ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: produção do próprio autor (2016).

A análise de regressão polinomial entre o número de ESP formados e as diferentes concentrações de TDZ em meio líquido indicou que a formação de ESP apresenta valor crescente até 4,0 μM de TDZ, e acima dessa concentração ocorre decréscimo no número de ESP formados (Figura 5). No

meio de cultura gelificado, o número de ESP formados diminui gradativamente com o aumento da concentração de TDZ até 8,0 μM , expresso por meio de uma equação quadrática polinomial com coeficiente de determinação (r^2) de 0,68.

Os elevados valores do número de ESP formados em meio de indução isento de regulador, em ambos os casos, indica níveis endógenos hormonais suficientes para a indução dessa rota morfogênica em *C. ranifera*. Os protocormos são constituídos por células meristemáticas com elevada síntese de auxinas e atividade metabólica (FERREIRA *et al.*, 2015).

A formação rápida e direta de ESPs via TCL de protocormos, sem a mediação de calo é um eficiente método de propagação massal de *C. ranifera*. De acordo com Sheelavanthmath *et al.* (2005), esse fator é muito importante porque plantas produzidas por regeneração direta exibem estabilidade genética quando comparadas àquelas produzidas por calo. Ainda, Teixeira da Silva (2013) ressalta que esse método direto por ESP é mais eficiente na propagação massal por ser mais simples e reproduzível.

A análise estatística do número de plântulas regeneradas de ESP comparando o meio líquido e o meio gelificado (Figuras 6 e 7) revelou a inexistência de diferenças significativas ($p \leq 0,05$) conforme a Tabela 1. Em meio líquido, o maior número de plântulas regeneradas ocorreu com 0, 2 e 4 μM de TDZ. Com o uso de meio gelificado o maior número de plântulas regeneradas foi com 0, 2 e 8 μM .

Figura 6 - Conversão de plântulas de *Coppensia ranifera* a partir de ESP via TCL induzidos em meio gelificado. A-B-C) Tratamento com TDZ 0,0 μ M; D-E-F) Tratamento com TDZ 1,0 μ M; G-H-I) Tratamento com TDZ 2,0 μ M; J-K-L) Tratamento com TDZ 4,0 μ M; M-N) Tratamento com TDZ 8,0 μ M; Barras = 60 mm



Fonte: produção do próprio autor (2016).

Figura 7 - Conversão de plântulas de *Coppensia ranifera* a partir de ESP via TCL induzidos em meio líquido. A-B-C) Tratamento com TDZ 0,0 μ M; D-E-F) Tratamento com TDZ 1,0 μ M; G-H-I) Tratamento com TDZ 2,0 μ M; J-K-L) Tratamento com TDZ 4,0 μ M; M-N) Tratamento com TDZ 8,0 μ M; Barras = 60 mm



Fonte: produção do próprio autor (2016).

O percentual de conversão em plântula utilizando-se o meio gelificado foi de 36,7% enquanto em meio líquido foi de 13,8%. Em estudos de regeneração de plântulas de orquídeas do gênero *Renanthera* Tom Thum `Qilin` o uso de TDZ (8 a 10 μ M) em meio gelificado na indução de ESP possibilitou o valor máximo de 19,3% de conversão (WU *et al.*, 2012). Elevados percentuais de conversão de plântulas (65 a 92%) foram registrados em meio gelificado com o uso de TDZ (3 e 5 μ M) como indutor da formação de ESPs em *Rynchosystylis gigantea* (LE *et al.*, 1999). No presente estudo com *C. ranifera*, os resultados indicam que apesar de maior número de ESP serem induzidos em meio líquido, a maior eficiência na maturação e conversão em plântulas ocorrem em meio gelificado.

4 CONCLUSÕES

A formação de estrutura semelhante a protocormo (ESP) a partir da técnica de TCL em protocormos de *Coppensia ranifera* como fonte de explante, e uso de thidiazuron (TDZ) ocorre por via direta, ou seja, sem formação de calo. A utilização de meio de cultura líquido é mais eficiente do que o meio gelificado com relação ao número de ESP formados por explante. Em meio líquido de cultura o maior percentual de formação e o maior número de ESP por explante ocorre com a adição de 4 μ M de TDZ. O número de plântulas regeneradas por explante não difere com o uso de meio líquido e gelificado, entretanto, a eficiência (percentual de conversão) na regeneração de plântula em meio gelificado é maior do que em meio líquido. A eficiente indução de ESP e a conversão em plântula com o uso de TDZ em baixa concentração a partir de protocormos possibilita um simples e eficiente protocolo de propagação e conservação em um curto período de tempo dessa espécie de orquídea nativa da Floresta Ombrófila Mista.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2014.
- ARDITTI, J.; ERNST, R. **Micropropagation of Orchids**. John Wiley and Sons, New York, 1993.
- ARDITTI, J. **Micropropagation of orchids**. Vol 1. Blackwell Publishing, 2008.
- BARROS, F. et al. **Orchidaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2016.
- BEGUM, A.A.; TAMAKI, M.; TAHARA, M.; KAKO, S. Somatic embryogenesis in *Cymbidium* through *in vitro* culture of inner tissue of protocorm-like bodies. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 63, n.2, p. 419-427, 1994.
- CALLEGARO, R.M.; LONGHI, S.J.; ANDRZEJEWSKI, C. Variações estruturais entre grupos florísticos de um remanescente de Floresta Ombrófila Mista Montana em Nova Prata, RS. **Ciência Florestal**, v. 25, n. 2, p. 337-349, 2015.
- CHUGH, S.; GUHA, S.; RAO, I.U. Micropropagation of orchids: a review on the potential of different explants. **Scientia Horticulture**, v.122, p. 507-520, 2009.
- COMPTON, M. Statistical methods suitable for the analysis of plant tissue culture data. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 37, n. 3, p. 217-242, 1994.
- FERREIRA, W.M.; SUZUKI, R.M. O cultivo in vitro de orquídeas como alternativa para a preservação de espécies

nativas ameaçadas de extinção. Atualidades, desafios e perspectiva da botânica no Brasil. **Imagem Gráfica, Natal**, p. 67-68, 2008.

FERREIRA, D. L.; SMIDT, E. C.; RIBAS, L. L. F. Efficient micropropagation of *Epidendrum secundum* Jacq from leaves and protocorms. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 13, p. 1122-1128, 2015.

FIORENTIN, L.D.; TEO, S.J.; SCNEIDER, C.R.; COSTA, R.H.; BATISTA, S. Análise florística e padrão espacial da regeneração natural em área de Floresta Ombrófila Mista na região de Caçador, SC. **Floresta e Ambiente**, v. 22, n. 1, p. 60-70, 2015.

GALDINO JÚNIOR, R.F.; MANTOVANI, C.; PIVETTA, K.F.L.; MACEDO LEMOS, E. G. Crescimento in vitro e aclimatização de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae) com carvão ativado sob dois espectros luminosos. **Ciência Rural**, v. 42, n. 5, p. 801-807, 2012.

GOMES, L.R.P.; FRANCESCHI, C.R.B.; RIBAS, L.F. Micropropagation of *Brasilidium forbesii* (Orchidaceae) through transverse and longitudinal thin cell layer culture. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 37, n. 2, p. 143-149, 2015.

HOSSAIN, M.M; SHARMA, M.; TEIXEIRA DA SILVA, J.A.; PATHAK, P. Seed germination and tissue culture of *Cymbidium giganteum* Wall. Ex Lindl. **Scientia Hortiulturae**, v. 123, n. 4, p. 479-487, 2010.

HOSSAIN, M. M. et al. The application of biotechnology to orchids. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 32, n. 2, p. 69-139, 2013.

JAIPHET, C.; RANGSAYATORN, N. Micropropagation of a rare orchid *Dendrobium gratiosissimum* using thin cell layers. **Acta Hortic**, v. 878, p. 185–189, 2010.

KNUDSON, L. A new nutrient solution for germination of orchid seed. **Am Orchid Soc Bull**, v. 15, n. 5, p. 214-217, 1946.

LE, B.V.; PHUONG, N.T.H.; HONG, L.T.A.; TRAN THANH VAN, K. High frequency shoot regeneration from *Rhynchostylis gigantea* (Orchidaceae) using thin cell layers. **Plant Growth Regulation**, v. 28, n. 3, p. 179-185, 1999.

LEE, Y.; HSU, S.; YENG, E.C. Orchid protocorm like bodies are somatic embryos. **American Journal of Botany**, v. 100, n. 11, p. 2121-2131, 2013.

LIAO, Y.J.; TSAI, Y.C.; SUN, Y.W.; LIN, R.S.; WU, F.S. *In vitro* shoot induction and plant regeneration from flower buds in *Paphiopedilum* orchids. **In Vitro Cellular Developmental Biology Plant**, v.47, p.702–709, 2011.

MALABADI, R.B.; TEIXEIRA DA SILVA, J.A.; MULGUND, G.S. TDZ-induced *in vitro* shoot regeneration of *Aerides maculoseum* Lindl. from shoot tip thin cell layers. **Floricult. Ornamental Biotechnol**, v. 3, n. 1, p. 35–39, 2009.

MARTINELLI, G.; MORAES, M.A. **Livro vermelho da flora do Brasil** - 1. ed. - Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013.

MAYER, J.L.S.; GLORIA, B.A.; STANCATO, G.C. Direct regeneration of protocormo like bodies (PLBs) from leaf apices

of *Oncidium flexuosum* Sims (Orchidaceae). **Plant Cell Tissue and Organ Culture** 103, 411–416, 2010.

MONDAL, T.; ADITYA, S.; BANERJEE, N. In vitro axillary shoot regeneration and direct Protocorm-like body induction from axenic shoot tips of *Doritis pulcherrima* Lind. **Plant tissue culture and Biotechnology**, v.23, p.251-261, 2013.

MOREL, G.M. Producing virus-free cymbidiums. **American Orchid Society Bulletin**, v. 29, p. 495–497, 1960.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p. 473-497, 1962.

NAING, A.H.; CHUNG, J.D.; PARK, I.S.; LIM, K.B. Efficient plant regeneration of the endangered medicinal orchid, *Coleogyne cristata* using protocorm-like bodies. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, n. 3, p. 659-666, 2011.

NASCIMENTO, A.R.T.; LONGHI, S.J.; BRENA, D.A. Estrutura e padrões de distribuição espacial de espécies arbóreas em uma amostra de Floresta Ombrófila Mista em Nova Prata, RS. **Ciência Florestal**, v. 11, n. 1, p. 105-119, 2001.

PINHEIRO, F.; BARROS, F.; LOURENÇO, A.R. O que é uma orquídea? In: BARROS, F.; KERBAUY, G.B. **Orquidologia sul-americana: uma compilação científica**. São Paulo, 2004, p. 192.

PULLMAN, G.S.; SKRYABINA, A. Liquid medium and liquid overlays improve embryogenic tissue initiation in conifers. **Plant Cell Reports**, v. 26, n. 7, p. 873-887, 2007.

RANGSAYATORN, N. Micropropagation of *Dendrobium draconis* RChb. f. from thin cross-section culture. **Scientia Horticulturae**, v. 122, n. 4, p. 662-665, 2009.

SCHNEIDERS, D.; PESCADOR, R.; BOOZ, M.R.; SUZUKI, R.M. Germinação, crescimento e desenvolvimento in vitro de orquídeas (Cattleya spp., Orchidaceae). **Rev. Ceres**, vol.59, n.2, p.185-191, 2012.

SHEELAVANTHMATH, S.S.; MURTHY, H.N.; HEMA, B.P.; HAHN, E.J.; PAEK, K.Y. High frequency of protocorm like bodies (PLBs) induction and plant regeneration from protocorm and leaf sections of *Aerides crispum*. **Scientia Horticulturae**, v. 106, n. 3, p. 395-401, 2005.

SIQUEIRA, C.E.; ZANIN, A.; MENINI NETO, L. Orchidaceae in Santa Catarina: Update, geographic distribution and conservation. **Check List**, v. 10, n. 6, p. 1452-1478, 2014.

TEIXEIRA DA SILVA, J.A., YAM, T.; FUKAI, S.; NAYAK, N.; TANAKA, M. Establishment of optimum nutrient media for in vitro propagation of *Cymbidium* Sw. (Orchidaceae) using protocorm-like body segments. **Prop. Ornamental Plants**, v. 5, n. 3, p. 129–136, 2005.

TEIXEIRA DA SILVA, J.A.; TANAKA, M. Multiple regeneration pathways via thin cell layers in hybrid *Cymbidium* (Orchidaceae). **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 25, n. 3, p. 203-210, 2006.

TEIXEIRA DA SILVA, J.A.; TANAKA, M. Impact of gelling agent and alternative medium additives on hybrid *Cymbidium* protocorm like body and callus formation. **Floric Ornam Biotechnol**, v. 3, n. 1, p. 56-58, 2009.

TEIXEIRA DA SILVA, J.A. The role of thin cell layer in regeneration and transformation of orchids. **Plant Cell, tissue and Organ Culture**, v. 113, n. 2, p. 149-161, 2013.

TRAN THANH VAN, M. In vitro control of de novo flower, bud, root and callus differentiation from excised epidermal tissues. **Nature**, v. 246, p.44–45, 1973.

VIBRANS, A.C.; BONNET, A.; CAGLIONI, E.; GASPER, A.L.; LINGNER, D.V. **Epífitos vasculares da Floresta Ombrófila Densa** (Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina, volume 5). Blumenau: Edifurb, 2013. 336 p.

WANGLER, M.S.; BARBERENA, F.F.V.A.; LOPES, R.C. Orchidaceae in an Atlantic Forest área: floristics and similarity to other dense Ombrophilous Forest fragments. **Acta Botanica Brasilica**, v. 29, n. 1, p. 82-93, 2015.

WU, K.; ZENG, S.; TEIXEIRA DA SILVA, J.A.; CHEN, Z.; ZHANG, J.; YANG, Y.; DUAN, J. Efficient regeneration of *Renanthera* Tom Thumb Qilin from leaf explants. **Scientia Horticulturae**, v.135, p.194-201, 2012.

ZHAO, P.; WU, F.; FENG, F.S.; WANG, W.J. Protocorm-like body (PLB) formation and plant regeneration from the callus culture of *Dendrobium candidum* Wall ex Lindl. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 44, p. 178–185, 2008.

ZHAO, P.; WANG, W.; FENG, F.S.; WU, F.; YANG, Z.Q.; WANG, W.J. High frequency shoot regeneration through transverse thin cell layer culture in *Dendrobium candidum*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 90, n. 2, p. 131-139, 2007.