



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

VERÔNICA PELLIZZARO MORESCO

**CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E POTENCIAL FISIOLÓGICO
DE SEMENTES DE BROMÉLIAS BRASILEIRAS DO
GÊNERO *DYCKIA* EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA,
TAMANHO DE SEMENTE E ARMAZENAMENTO**

Londrina
2021

VERÔNICA PELLIZZARO MORESCO

**CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E POTENCIAL FISIOLÓGICO
DE SEMENTES DE BROMÉLIAS BRASILEIRAS DO
GÊNERO *DYCKIA* EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA,
TAMANHO DE SEMENTE E ARMAZENAMENTO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de doutora em Agronomia.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Lúcia Sadayo Assari
Takahashi

Londrina
2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

V549 Pellizzaro Moresco, Verônica.
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE BROMÉLIAS BRASILEIRAS DO GÊNERO DYCKIA EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA, TAMANHO DE SEMENTE E ARMAZENAMENTO / Verônica Pellizzaro Moresco. - Londrina, 2021.
80 f.

Orientador: Lúcia Sadayo Assari Takahashi.
Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2021.
Inclui bibliografia.

1. Bromeliaceae - Tese. 2. Dyckia - Tese. 3. Armazenamento - Tese. 4. Sementes - Tese. I. Sadayo Assari Takahashi, Lúcia . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 63

VERÔNICA PELLIZZARO MORESCO

**CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E POTENCIAL FISIOLÓGICO
DE SEMENTES DE BROMÉLIAS BRASILEIRAS DO
GÊNERO *DYCKIA* EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA,
TAMANHO DE SEMENTE E ARMAZENAMENTO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de doutora em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lúcia Sadayo Assari
Takahashi
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Ricardo Tadeu de Faria
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Thiago Ometto Zorzenoni
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dr^a. Gisely Paula Gomes
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Dr. Felipe Favoretto Furlan
Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná–
IDR

Londrina, 29 de Março de 2021.



Fonte: *Dyckia remotiflora*: como *D. rariflora*, Bot. Reg. 1782, 1836.

**Dedico esse trabalho à Deus e
minha família!**

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me guiado e me dado força durante a realização deste trabalho.

A Universidade Estadual de Londrina e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia pela oportunidade concedida.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos e apoio.

A minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Lúcia Sadayo Assari Takahashi, por toda a disponibilidade, apoio, paciência e conhecimento transmitido durante a realização deste trabalho.

Aos amigos, colegas e alunos do laboratório de Fitotecnia, pela disponibilidade, companherismo, conhecimento. Agradecimento especial a Mônica Satie Omura, Felipe Favoretto Furlan, Gustavo Henrique Freiria, Douglas Junior Bertoncelli.

Ao Professor Dr. Ricardo Tadeu de Faria pela utilização da estrutura para realização dos testes de criopreservação.

Ao Walter Krantz pela concessão das sementes.

Aos estagiários do laboratório de Fitotecnia e aos funcionários do setor, pelo auxílio na realização deste trabalho.

A minha família, que mesmo longe sempre me apoiou em minhas decisões, especialmente aos meus pais, Glicerio Pellizzaro e Marilene Pellizzaro, e as minhas irmãs, Daiane Pellizzaro Ruguni, Delise Pellizzaro Contreras e Valéria Pellizzaro.

A meu marido, João Pedro Moresco, por todo carinho, auxílio e paciência ao decorrer deste período, você deixou minha caminhada mais fácil e alegre.

Obrigada!

*“A persistência é o caminho do
êxito.”*

Charles Chaplin

MORESCO, Verônica Pellizzaro. **Características físicas e potencial fisiológico de sementes de bromélias Brasileiras do gênero *Dyckia* em função da temperatura, tamanho de semente e armazenamento.** 2021. 80 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

RESUMO

Em razão do crescente uso de bromélias no paisagismo houve a intensificação da extração dessas plantas de seu habitat, fato que tem alertado para ameaça de extinção de algumas espécies. Para que haja a preservação da biodiversidade há necessidade do desenvolvimento de métodos para a produção de mudas de baixo impacto ambiental e reduzido custo. Neste sentido, a multiplicação sexuada de bromélias é uma alternativa promissora. O objetivo deste avaliar o potencial fisiológico de sementes de Bromeliaceas de diferentes tamanhos, bem como analisar seu desempenho em condições de armazenamento distintas e, por fim, avaliar o uso de crioprotetores disponíveis e seu reflexo no processo de germinação. O potencial fisiológico de sementes foi verificado por meio de três experimentos: tamanho de sementes, armazenamento e criopreservação em delineamento inteiramente casualizado. No experimento 1: Sementes de três espécies de bromélias do gênero *Dyckia* (*D. brevifolia*, *D. beateae* e *D. excelsa*) foram separadas em três lotes: pequenas, médias e grandes avaliando-se individualmente o comprimento, largura e espessura, resultando em um esquema fatorial 3x3. No experimento 2: Para o estudo de armazenamento, foram testadas três embalagens (polietileno, polipropileno e papel do tipo 'Kraft') e duas temperaturas (ambiente (25°C) e controlada (10°C)) em três períodos de armazenamento (30, 60 e 90 dias), para três espécies de bromélia (*D. brevifolia*, *D. beateae* e *D. excelsa*) resultando em um esquema fatorial 3x2x3 e as espécies testadas separadamente. No experimento 3: Para o teste de criopreservação, foram utilizados seis tratamentos com crioprotetores e mais um controle (T1 - controle; T2 – sacarose 0,4M; T3 - glicerol 2M; T4 – PVS1 (19% de glicerol, 13% de etilenoglicol, 6% de dimetil sulfóxido, 0,5M de sorbitol); T5 – PVS2 (30% de glicerol, 15% de etilenoglicol, 15% de dimetil sulfóxido e 0,4M de sacarose); T6 – PVS3 (50% de glicerol + 50% de sacarose); T7 – PVS2 com 1% de floroglucinol) e seis espécies de bromélias do gênero *Dyckia* (*D. excelsa*; *D. beateae*; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya*; *D. brevifolia*) em esquema fatorial 6x7. Para os três trabalhos foram analisados: primeira e última contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento de plântula e massa seca de plântula. Os dados submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$) e as médias comparadas pelo teste Tukey à 5% de probabilidade. O tamanho das sementes influencia o potencial fisiológico, sendo que, sementes maiores possuem maior germinação e vigor. A espécie *D. brevifolia*, possui sementes de melhor qualidade (97% de germinação). O armazenamento em temperatura ambiente ou controlada, por um período de 30 dias, é eficaz para manutenção do vigor de sementes de *D. beateae*, condicionadas tanto em embalagens de polietileno quanto de polipropileno. Para sementes de *D. brevifolia*, o armazenamento em embalagens de polietileno e polipropileno em ambas temperaturas (25°C e 10°C) e períodos testados apresentam alto vigor. Sementes de *D. beateae* e *D. brevifolia* apresentam maior porcentagem de germinação. A criopreservação sem utilização de crioprotetores nas sementes de *D. excelsa*; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya* e *D. brevifolia*, não altera vigor. Os tratamentos com

sacarose, PVS1 e PVS2, visando à conservação por tempo prolongado, são alternativas viáveis e promissoras na manutenção do vigor de sementes de *D. beateae*.

Palavras-chave: bromeliaceae; bromélias brasileiras; criopreservação; germinação; risco de extinção; vigor.

MORESCO, Verônica Pellizzaro. **Physical characteristics and physiological potential of Brazilian bromeliad seeds of the genus *Dyckia* as a function of temperature, seed size and storage.** 2021. 80 p. Tese (Programa de Pós-Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

ABSTRACT

Due to the increasing use of bromeliads in the landscaping, there has been an intensification of the extraction of these plants from their habitat, a fact that has warned of the threat of extinction of some species. For the preservation of biodiversity, there is a need to develop methods for the production of seedlings with low environmental impact and reduced cost. In this sense, the sexual multiplication of bromeliads is a promising alternative. The objective of this study is to evaluate the physiological potential of Bromeliaceae seeds of different sizes, as well as to analyze their performance under different storage conditions and, finally, to evaluate the use of available cryoprotectors and their reflex in the germination process. The physiological potential of seeds was verified through three experiments: seed size, storage and cryopreservation in a completely randomized design. In experiment 1: Seeds of three species of bromeliads of the genus *Dyckia* (*D. brevifolia*, *D. beateae* and *D. excelsa*) were separated into three lots: small, medium and large, individually evaluating the length, width and thickness, resulting in a 3x3 factorial scheme. In experiment 2: For the storage study, three packages (polyethylene, polypropylene and 'Kraft' paper) and two temperatures (ambiente (25°C) and controlled (10 ° C)) were tested in three storage periods (30, 60 and 90 days), for three species of bromeliad (*D. brevifolia*, *D. beateae* and *D. excelsa*) resulting in a 3x2x3 factorial scheme and the species tested separately. In experiment 3: For the cryopreservation test, six treatments with cryoprotectants and one control (T1 - control; T2 - 0.4M sucrose; T3 - 2M glycerol; T4 - PVS1 (19% glycerol, 13% ethylene glycol) , 6% dimethyl sulfoxide, 0.5M sorbitol); T5 - PVS2 (30% glycerol, 15% ethylene glycol, 15% dimethyl sulfoxide and 0.4M sucrose); T6 - PVS3 (50% glycerol + 50% sucrose); T7 - PVS2 with 1% floroglucinol) and six species of bromeliads of the genus *Dyckia* (*D. excelsa*; *D. beateae*; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya*; *D. brevifolia*) in scheme factorial 6x7. For the three studies were analyzed: first and last germination count, germination speed index, seedling length and seedling dry mass. The data submitted to analysis of variance by the F test ($p \leq 0.05$) and the means compared by the Tukey test at 5% probability. The size of the seeds influences the physiological potential, and larger seeds have greater germination and vigor. The species *D. brevifolia*, has better quality seeds (97% of germination). Storage at room or controlled temperature, for a period of 30 days, is effective for maintaining the vigor of *D. beateae* seeds, conditioned in both polyethylene and polypropylene packaging. For seeds of *D. brevifolia*, storage in polyethylene and polypropylene packaging at both temperatures (25°C and 10°C) periods tested is highly vigorous. *D. beateae* and *D. brevifolia* seeds have a higher germination percentage. Cryopreservation without using cryoprotectants in *D. excelsa* seeds; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya* and *D. brevifolia*, does not alter vigor. Treatments with sucrose, PVS1 and PVS2, aiming at long-term conservation, are viable and promising alternatives in maintaining the vigor of *D. beateae* seeds.

Key words: bromeliaceae; brazilian bromeliads; cryopreservation; germination; risk of extinction; force.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Caules (A) e raízes (W) em bromélia	19
Figura 2 – Estolões (A) e rizomas (R) em bromélias.....	20
Figura 3 – Escamas absorventes de <i>Tillandsia</i> sp	20
Figura 4 – Flor trímera de <i>Vriesea</i> sp.....	22
Figura 5 – Corte longitudinal da flor de <i>Vriesea</i> sp. com visualização do ovário	22
Figura 6 – Semente de bromélia com apêndices plumosos.....	23
Figura 7 – Morfologia da semente, do desenvolvimento pós-seminal e da plântula de <i>Dyckia pseudococcinea</i> L. B. Sm. a. Semente. b-c. Fases da germinação. d-e. Plântula normal. f-g. Planta jovem. nsc: núcleo seminífero cordiforme; cp: colo com pelos; co: colo; bc: bainha cotiledonar; hi: hipocótilo; eo: eófilo; rp: raiz primária. Barras = 1 mm.....	27
Figura 8 – Etapas do processo de criopreservação lento ou rápido.....	31
Figura 9 – Ilustração de medidas de largura (A) e comprimento (B) de sementes de bromélias do gênero <i>Dyckia</i>	36
Figura 10 – Valores médios da largura das sementes de bromélias, <i>Dyckia brevifolia</i> , <i>Dyckia beateae</i> e <i>Dyckia excelsa</i> separadas em três lotes de sementes: pequenas (P), médias (M) e grandes (G).....	36
Figura 11 – Valores médios do comprimento das sementes de bromélias, <i>Dyckia brevifolia</i> , <i>Dyckia beateae</i> e <i>Dyckia excelsa</i> separadas em três lotes de sementes: pequenas (P), médias (M) e grandes (G).....	37
Figura 12 – A: Plantas de <i>Dyckia brevifolia</i> ; B: Sementes de <i>Dyckia brevifolia</i>	47
Figura 13 – Temperaturas (°C) máxima (TEMP. MÁXIMA), média (TEMP. MÉDIA) e mínima (TEMP. MÍNIMA), e ao longo do período experimental. Londrina-PR, 2021	48
Figura 14 – Temperaturas (°C) máxima (TEMP. MÁXIMA), média (TEMP. MÉDIA) e mínima (TEMP. MÍNIMA), e ao longo do período experimental. Londrina-PR, 2021	48

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Análise de variância com valores do quadrado médio das variáveis primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GER), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (COMP) e massa seca de plântula (MS) de bromélias (*Dyckia brevifolia*, *Dyckia beateae* e *Dyckia excelsa*) em função do comportamento fisiológico das sementes de diferentes tamanhos. Londrina – PR, 202139
- Tabela 2** – Interação entre os fatores espécie (*Dyckia brevifolia*, *Dyckia beateae* e *Dyckia excelsa*) e tamanho de semente (pequena, média e grande) para as variáveis primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GER), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (COMP) e massa seca de plântula (MS). Londrina - PR, 202140
- Tabela 3** – Análise de variância com valores do quadrado médio das variáveis primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GER), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (COMP) e massa seca de plântula (MS) de bromélias (*Dyckia beateae*) em função do comportamento fisiológico das sementes armazenadas em diferentes, períodos, ambientes e embalagens. Londrina – PR, 202150
- Tabela 4** – Índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (COMP) e massa seca de plântula (MS) de sementes bromélias (*D. beateae*) armazenadas em diferentes períodos (30, 60 e 90 dias), temperaturas (ambiente e controlada) e embalagens (polietileno, polipropileno e papel Kraft). Londrina – PR, 202151
- Tabela 5** – Interação entre período (P), temperatura (T) e embalagem (E) para a variável primeira contagem de germinação (PCG) de sementes de bromélias (*D. beateae*) armazenadas em diferentes, períodos (30, 60 e 90 dias), temperaturas (ambiente e controlada) e embalagens (polietileno, polipropileno e papel Kraft). Londrina – PR, 202152
- Tabela 6** – Análise de variância com valores do quadrado médio das variáveis primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GER), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (COMP) e massa seca de plântula (MS) de sementes

	bromélias (<i>D. brevifolia</i>) armazenadas em diferentes, períodos, ambientes e embalagens. Londrina – PR, 2021	53
Tabela 7 –	Índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (COMP) e massa seca de plântula (MS) de sementes bromélias (<i>D. brevifolia</i>) armazenadas em diferentes, períodos (30, 60 e 90 dias), temperaturas (ambiente e controlada) e embalagens (polietileno, polipropileno e papel Kraft). Londrina – PR, 2021	54
Tabela 8 –	Interações entre período (P) e embalagem (E); temperatura (T) e embalagem (E) para a variável primeira contagem de germinação (PCG), e interação entre período (P) e temperatura (T) para variável massa seca de plântula (MS) de sementes de bromélias (<i>D. brevifolia</i>) armazenadas em diferentes, períodos (30, 60 e 90 dias), temperaturas (ambiente e controlada) e embalagens (polietileno, polipropileno e papel Kraft). Londrina – PR, 2021	55
Tabela 9 –	Análise de variância com valores do quadrado médio das variáveis germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (COMP) e massa seca de plântula (MS) de bromélias (<i>D. excelsa</i> ; <i>D. beateae</i> ; <i>D. dusenni</i> ; <i>D. delicata</i> ; <i>D. distachya</i> ; <i>D. brevifolia</i>) em função do comportamento fisiológico das sementes armazenadas no nitrogênio líquido com soluções crioprotetoras. Londrina – PR, 2021	64
Tabela 10 –	Efeito isolado da espécie sobre a variável germinação de plântulas de bromélias (<i>D. excelsa</i> ; <i>D. beateae</i> ; <i>D. dusenni</i> ; <i>D. delicata</i> ; <i>D. distachya</i> ; <i>D. brevifolia</i>), e teor de água inicial. Londrina-PR, 2021	65
Tabela 11 –	Interação entre os fatores espécie (E) (<i>D. excelsa</i> ; <i>D. beateae</i> ; <i>D. dusenni</i> ; <i>D. delicata</i> ; <i>D. distachya</i> ; <i>D. brevifolia</i>) e soluções crioprotetoras (T) (T1 - controle; T2 – sacarose 0,4M; T3 - glicerol 2M; T4 – PVS1 (19% de glicerol, 13% de etilenoglicol, 6% de dimetil sulfóxido, 0,5M de sorbitol); T5 – PVS2 (30% de glicerol, 15% de etilenoglicol, 15% de dimetil sulfóxido e 0,4M de sacarose); T6 – PVS3 (50% de glicerol + 50% de sacarose); T7 – PVS2 com 1% de floroglucinol) para as variáveis índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (COMP) e massa seca de plantula (MS). Londrina - PR, 2021	67

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	REÓFITAS.....	15
2.2	BROMÉLIAS.....	16
2.2.1	Origem, Distribuição Geográfica E Classificação Botânica	16
2.2.2	O Gênero <i>Dyckia</i>	17
2.3	MORFOLOGIA E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA	18
2.4	ASPECTOS DE PROPAGAÇÃO	24
2.5	CARACTERÍSTICAS DAS SEMENTES	25
2.5.1	Armazenamento De Sementes.....	28
2.5.2	Tamanho De Sementes.....	29
2.5.3	Criopreservação	30
3	ARTIGO A: Tamanho de sementes na qualidade fisiológica de bromélias <i>Dyckia</i> spp.	33
3.1	RESUMO.....	33
3.2	ABSTRACT	33
3.3	INTRODUÇÃO	34
3.4	MATERIAL E MÉTODOS	35
3.5	RESULTADOS.....	38
3.6	DISCUSSÃO	41
3.7	CONCLUSÕES	43
4	ARTIGO B: Comportamento fisiológico de sementes de reófitas <i>Dyckia</i> (Bromeliaceae) armazenadas em diferentes períodos, ambientes e embalagens	44
4.1	RESUMO.....	44
4.2	ABSTRACT	44
4.3	INTRODUÇÃO	45
4.4	MATERIAL E MÉTODOS.	47
4.5	RESULTADOS.....	50

4.6	DISCUSSÃO	55
4.7	CONCLUSÕES	58
5	ARTIGO C: Fisiologia de sementes de <i>Dyckia</i> (Bromeliaceae) em função do armazenamento em nitrogênio líquido	59
5.1	RESUMO.....	59
5.2	ABSTRACT	59
5.3	INTRODUÇÃO	60
5.4	MATERIAL E MÉTODOS	61
5.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
5.6	CONCLUSÕES	69
6	CONSIDERAÇÕES GERAIS	70
7	REFERÊNCIAS	71

1 INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica é considerada um dos biomas mais ricos em biodiversidade e dentre as espécies que fazem parte deste bioma destacam-se as bromélias, plantas na sua maioria herbáceas, perenes, terrícolas, epífitas ou rupícolas, com caule reduzido, portadoras de folhas longas dispostas em rosetas. Muitas espécies de bromélias são utilizadas por seu valor ornamental e alimentar.

Embora apresentem grande potencial ornamental, poucas espécies de bromélias são produzidas em escala comercial, em razão da disponibilidade e fácil retirada do ambiente natural. Em razão do crescente uso de bromélias no paisagismo brasileiro uma elevada quantidade de plantas vem sendo retirada das matas e comercializadas de maneira não sustentável, o que tem acarretado ameaça de extinção de algumas das espécies.

Para que haja a preservação da biodiversidade, há necessidade do desenvolvimento de métodos para a produção de mudas de baixo impacto ambiental e reduzido custo, que preservem a diversidade genética das espécies a fim de proporcionar uma alternativa para propagação. Neste sentido, a multiplicação sexuada de bromélias é uma alternativa promissora, embora a semente não seja o principal meio de propagação das espécies herbáceas de monocotiledôneas.

Diante disso, o armazenamento pode ser uma alternativa benéfica para a produção de mudas via semente e tem por finalidade a preservação das espécies e manutenção da viabilidade das sementes por um longo período, o que garante ao produtor fazer um planejamento da próxima semeadura e o escalonamento da produção.

Há escassez de informações sobre armazenamento de sementes utilizando a técnica da criopreservação, que visa conservar o material biológico em temperaturas extremamente baixas (-196°C) em nitrogênio líquido com a manutenção das características originais do material após o descongelamento.

Conhecer os aspectos físicos e fisiológicos são de extrema importância no processo de germinação. O tamanho das sementes é um fator que deve ser levado em consideração na hora da escolha, podendo ter influência

no vigor. Sementes maiores possuem maior quantidade de reservas e na maioria das vezes apresentam vantagens em relação às pequenas, podendo ser mais vigorosas o que garante o crescimento mais rápido das raízes.

A partir do conhecimento da estrutura da semente, é possível obter informações que auxiliem em estudos de germinação, armazenamento e métodos de cultivo, visto que para algumas espécies de bromélias não há recomendações para condução de testes nas Regras para Análise de Sementes.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o potencial fisiológico de sementes de Bromeliaceas de diferentes tamanhos, bem como analisar seu desempenho em condições de armazenamento distintas e, por fim, avaliar o uso de criopotetores disponíveis e seu reflexo no processo de germinação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 REÓFITAS

O termo reófitas designa-se as espécies vegetais que possuem habitats particulares (HENLE *et al.*, 2004). Este grupo ocorre exclusivamente às margens de rios rochosos de fluxo rápidos e encachoeirados, que sofrem enchentes frequentes na época das cheias e secas extremas nos períodos das vazantes (KLEIN, 1979).

As reófitas contemplam um “grupo biológico”, pois pertencem a famílias e espécies que não se relacionam taxonomicamente, mas que se adaptam a especificações semelhantes. Podem ser dividida em duas classes: reófitas exclusivas as quais são restritas a leitos de rios e de córregos com corredeiras; e reófitas facultativas que ocorrem em trechos de corredeiras, e podem ser encontradas também em outros tipos de habitats (STEENIS, 1981).

Ocorrem praticamente em todos os continentes, apresentando maior diversidade nos trópicos. Desempenha papel importante para evitar ou diminuir a erosão nas margens fluviais (KLEIN, 1979), contudo tem sofrido pressão antrópica, principalmente devido à implantação de usinas hidrelétricas. Como a ocorrência destas espécies está vinculada à presença de corredeiras, a perda destes habitats pode comprometer algumas populações (ROGALSKI; REIS, 2009; WIESBAUER; REIS, 2009). Com isso, estudos relacionados às espécies de reófitas são de extrema importância para a conservação dessa vegetação.

Estudos feitos por Klein (1979), relataram uma relação entre reófitas encontradas no estado de Santa Catarina, sendo 42 espécies pertencentes a 21 famílias. Em uma relação florística realizada em 2007 na divisa entre os estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul foram coletadas 489 espécies com hábitos reofíticos, pertencentes a 287 gêneros e 115 famílias. Entre as espécies identificadas em nível específico, 12 foram consideradas reófitas exclusivas (T. Guimarães, dados não publicados). Com isso, pode-se observar a riqueza desse grupo biológico e a importância da sua preservação, pois a perda do habitat reofítico pode comprometer várias populações ou uma espécie (REIS *et al.*, 2005; WIESBAUER; REIS, 2009).

2.2 BROMÉLIAS

2.2.1 Origem, Distribuição Geográfica e Classificação Botânica

Estas plantas são oriundas da América tropical (LUTHER, 2014), e distribuída por toda América, sendo praticamente exclusiva nas regiões neotropicais (BENZING 2000), com exceção de *Pitcairnia feliciana* (Aug. Chev) Harms e Mildbr nativa da África (GIVNISH *et al.*, 2007; 2011).

A família das Bromeliaceae compreende 3320 espécies e 52 gêneros, trata-se de uma das maiores famílias de angiospermas (THE PLANT LIST, 2020). No Brasil, encontra-se 44 gêneros e 1.292 espécies sendo distribuída por todos os biomas (FORZZA *et al.*, 2013). Estima-se que cerca de 70% dos gêneros e 40% das espécies ocorram no território brasileiro, onde vivem como epífitas, rupícolas e terrícolas, sendo que a maior diversidade dessas espécies é encontrada na região Sudeste, especialmente na região da Mata Atlântica (LEME; SIQUEIRA FILHO, 2006).

Trata-se de uma família composta de três subfamílias: Bromelioideae, Pitcairnioideae e Tillandsioideae, classificadas quanto a particularidades de hábitos de crescimento, semente e frutos, tipos de tricomas e posição do ovário (SMITH; DOWNS, 1974; 1977; 1979). Segundo Moreira *et al.* (2006), a chave taxonômica das três subfamílias é representada da seguinte maneira: **Bromelioideae** - Margens foliares serrilhadas ou espinescentes; ovário ínfero ou semi-ínfero; fruto baga; sementes sem apêndices. **Tillandsioideae** - Margens inteiras a espinescentes; ovário súpero ou raramente semi-ínfero; fruto cápsula; sementes com apêndices; plantas geralmente epífitas; folhas com margens inteiras; sementes com apêndices plumosos. **Pitcairnoideae** - Plantas geralmente terrestre; folhas com margens espinescentes, serrilhadas ou raramente lisas; sementes aladas ou com outros tipos de apêndices.

As bromélias pertencem à posição basal das Poales, tendo como grupo irmão Thyphaceae e Sparganiaceae (GIVNISH *et al.*, 2007; APG, 2009). Estudos moleculares de Givnish *et al.* (2007) sobre a família das Bromeliaceae com base no sequenciamento de gene do cloroplasto (ndhF),

propuseram uma nova divisão, sugerindo que os grupos pertencentes a Pitcairnoideae sejam caracterizados como subfamília, pelo fato de não serem monofiléticas. Em 2011, Givnish *et al.* confirmaram a divisão da família Bromeliaceae em oito subfamílias sendo elas: Bromelioideae, Puyoideae, Pitcairnoideae, Navioideae, Hechtioideae, Tillandsioideae, Lindmanioideae e Brocchinioideae.

2.2.2 O Gênero *Dyckia*

O gênero *Dyckia* pertence à subfamília Pitcairnoideae, o qual compreende bromélias terrícolas e rupícolas (SMITH; DOWNS, 1974), que inclui plantas suculentas, adaptadas a ambientes áridos (BENZING, 2000), desenvolvendo-se bem em solos bem drenados ou afloramentos rochosos, apesar de algumas espécies sobreviver em ambientes frequentemente inundados (LEME *et al.*, 2012).

É constituído por aproximadamente 160 espécies, sendo considerado o terceiro maior da subfamília, ficando atrás dos gêneros *Plicairnia* e *Puya* com 337 e 230 espécies, respectivamente (LUTHER, 2014). Plantas deste gênero ocorrem em todo território nacional e em países vizinhos como Argentina, Bolívia, Paraguai e Uruguai (SMITH, DOWNS, 1974).

Espécies desse gênero podem ser encontradas nos biomas da Mata Atlântica, Restinga, Caatinga, Campos Rupestres e Vegetação de Cerrado (LEME *et al.*, 2012). No Brasil são encontradas 83% das espécies, ocorrendo desde o nível do mar até aproximadamente 1000 metros de altitude.

Este gênero é classificado como monofilético, de acordo com análises moleculares realizadas por Givnish *et al.* (2011). Conforme Leme *et al.* (2012), estudos filogenéticos específicos reforçam essa ideia, tornando visível que a dispersão na maioria das espécies deste gênero é recente, o que justifica a dificuldade em se distinguir características morfológicas que são utilizadas em estudos taxonômicos na diferenciação de espécies de bromélias do gênero *Dyckia*.

Quando propagadas por sementes, apresentam-se de forma individual, posteriormente formam densos agrupamentos por consequência da propagação clonal. As plantas pertencentes a este grupo apresentam folhas

coriáceas e suculentas, com frequente desenvolvimento de espinhos marginais e dispostas em rosetas que não formam tanque (PINANGÉ, 2013).

Suas raízes são fibrosas e as inflorescências são laterais racemosas, simples ou ramificadas, mostram flores de coloração principalmente amarela, laranja ou vermelha, sendo observada coloração castanho-avermelhada em algumas espécies (LEME *et al.*, 2012). Os frutos na maioria das vezes são do tipo cápsulas deiscentes, com ovário súpero ou ínfero. As sementes possuem pequenos apêndices e podem ser transportadas pelo vento (SMITH; DOWNS, 1974).

2.3 MORFOLOGIA E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

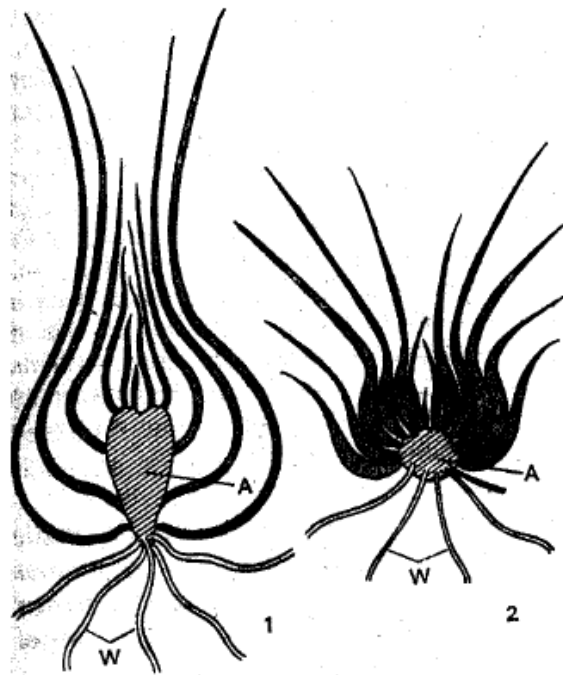
As Bromeliaceae apresentam grande variabilidade de formas. Conforme Rizzini (1976) e Benzing (2000), diferentes habitats e substratos, influenciam no aspecto da planta, que podem variar em tamanho e coloração das folhas, assim como na morfologia das flores.

Por apresentar uma gama de diversidade, as bromélias são encontradas em diferentes ambientes e utilizadas em várias situações. A importância econômica desta família dá-se como plantas ornamentais, sendo utilizada em decorações e projetos paisagísticos (MENDONÇA, 2002). Devido à grande procura por bromélias de valor ornamental, o extrativismo de seus ambientes naturais tem sido fortalecido nos últimos anos, causando uma ameaça para algumas espécies (MOREIRA *et al.*, 2006).

Outro valor econômico atribuído à esta família, é a sua utilização na alimentação, como é o caso do abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merrill) e de outras espécies do gênero *Ananas*, nativas do Cerrado, as quais têm aplicações na culinária regional, com produção artesanal de polpa, aluá, compota, geleia, bebidas, doces, sobremesas e sorvete (ALMEIDA, 1998). Outra espécie de valor econômico é o “caroá-verdadeiro”, *Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez, utilizada na produção de fibras. Na medicina natural, é utilizada como planta digestiva, depurativa e com outras funções, tem-se o uso da enzima “bromelina”, presente em algumas espécies do gênero bromélia (MOREIRA *et al.*, 2006).

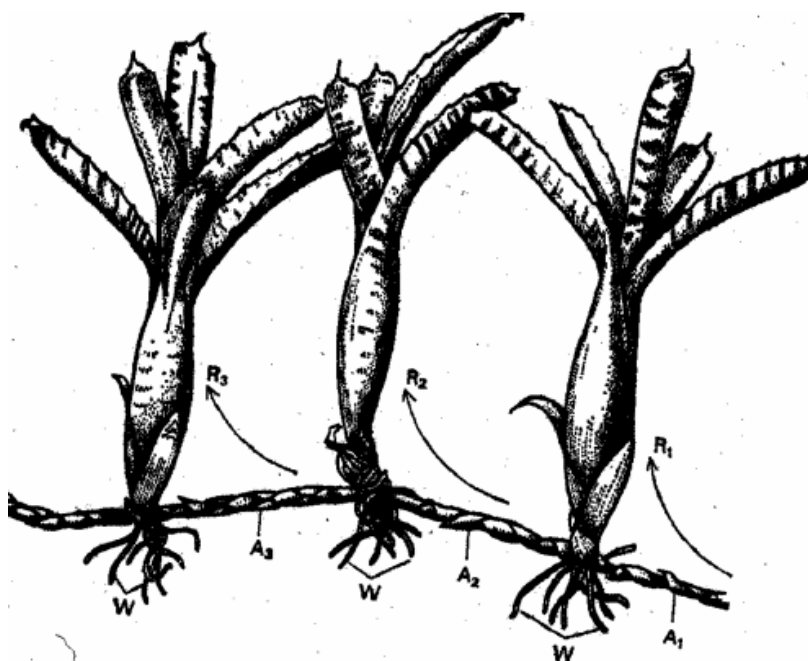
Representantes desta família, em geral possuem hábito herbáceo e são constituídos por plantas terrícolas, rupícolas e epífitas, com caules geralmente contraídos (Figura 1). Podem variar de plantas delicadas e de pequeno porte, como *Tillandsia recurvata* (L.) L., com alguns centímetros de comprimento, até plantas de grande porte, como *Puya raimondii* Harms, encontrada nos Andes, que pode atingir mais de 10 metros de altura (SMITH; DOWNS 1974; REITZ 1983). A presença de rizomas horizontais ou estolões é uma característica marcante para alguns gêneros e espécies. Os estolões formam touceiras com projeções de suas rosetas dando um aspecto bem característico (MOREIRA *et al.*, 2006) (Figura 2).

Figura 1 – Caules (A) e raízes (W) em bromélia.



Fonte: Moreira *et al.*, 2006.

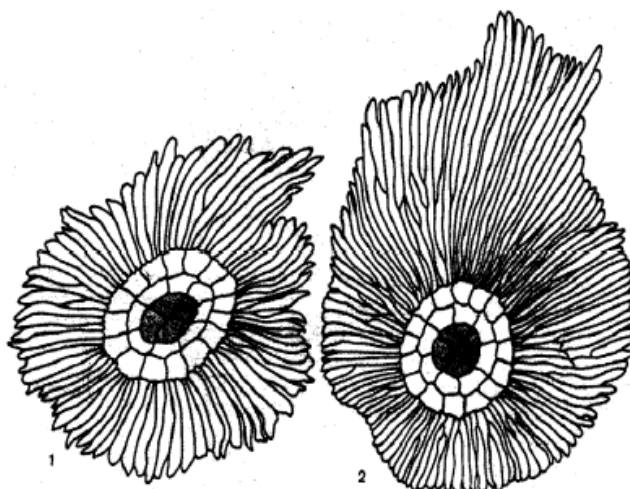
Figura 2 – Estolões (A) e rizomas (R) em bromélias.



Fonte: Moreira *et al.*, 2006.

Em Bromeliaceae as raízes (Figura 1) podem ter função apenas de fixação, pois nestas espécies a absorção de água e nutrientes ocorre por meio de escamas absorventes (Figura 3), por um mecanismo de osmose. Portanto, as escamas em Bromeliaceae exercem um importante papel eco fisiológico (MOREIRA *et al.*, 2006).

Figura 3 – Escamas absorventes de *Tillandsia* sp.



Fonte: Moreira *et al.*, 2006.

Os representantes de Bromeliaceae apresentam folhas duras ou suculentas, afuniladas (imbricadas), formando rosetas. Por apresentar a base das folhas mais largas, algumas espécies têm capacidade de reter água e detritos orgânicos no centro de sua roseta (REITZ, 1983), usualmente chamada de tanque, cisterna ou copo, cujo papel eco fisiológico é de grande importância, tanto para a nutrição das bromélias, como para criar um micro ambiente onde habitam alguns animais, como, formigas, sapos, aracnídeos, serpentes, dentre outros.

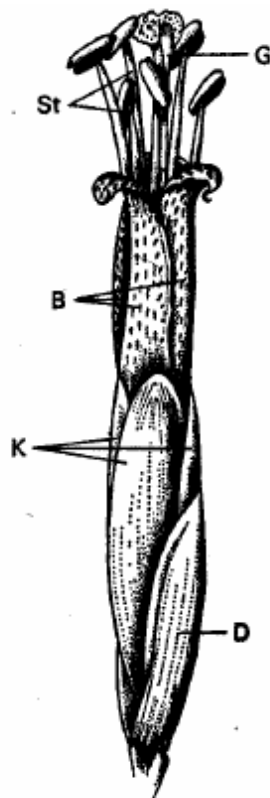
As folhas podem apresentar margens lisas à espinescentes, características importantes no reconhecimento das subfamílias e gêneros. Na superfície foliar há presença de escamas foliares (Figura 3), que desempenham importante função na absorção de água e nutrientes e na proteção contra a dessecação em ambientes com restrição hídrica. Em algumas espécies estas escamas são claramente visíveis e de cor argêntea, especialmente em espécies de *Tillandsia* e *Dyckia*. Esta coloração aumenta a refletância da luz solar na superfície foliar minimizando a transpiração (MOREIRA *et al.*, 2006).

Suas inflorescências possuem brácteas coloridas e vistosas que, juntamente com as flores coloridas, exercem papel importante na atração de polinizadores, destacando-se na família a ornitofilia. Em geral, possuem rosetas que florescem uma única vez e logo após senescem e podem ser substituídas por outras. A inflorescência pode ser séssil, sustentada por um eixo de origem caulinar e desenvolvida no centro da planta e em algumas espécies lateralmente, e normalmente antes de morrer, as plantas produzem grande quantidade de sementes e vários brotos, que garantem a sua propagação (SILVA, 2009; SILVA; SCATENA, 2011).

As flores são trímeras, com perianto diferenciado em cálice e corola; hermafroditas ou muito raramente funcionalmente pistiladas ou estaminadas; actinomorfas a zigomorfas. Possuem sépalas livres ou concrecidas na base, simétricas a fortemente assimétricas. As pétalas são livres ou parcialmente soldadas, algumas vezes providas de um par de apêndices membranáceos na face interna (Figura 4). Possuem três estigmas, estilete simples, seis estames, dispostos em duas séries com filetes livres ou concrecidos, algumas vezes adnatos à corola formando um tubo. O ovário pode

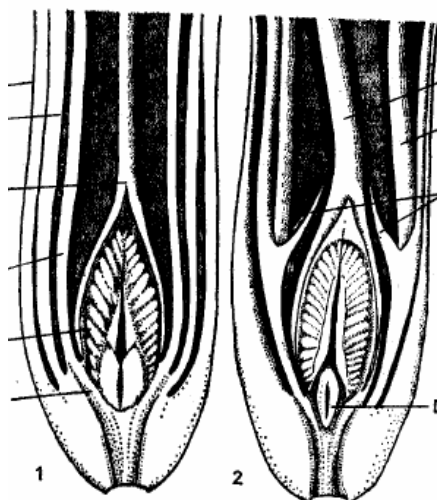
ser súpero, semi-ínfero ou ínfero, trilocular com placentação axial (MOREIRA *et al.*, 2006) (Figura.5).

Figura 4 – Flor trímera de *Vriesea* sp.



Fonte: Moreira *et al.*, 2006.

Figura 5 – Corte longitudinal da flor de *Vriesea* sp. com visualização do ovário.

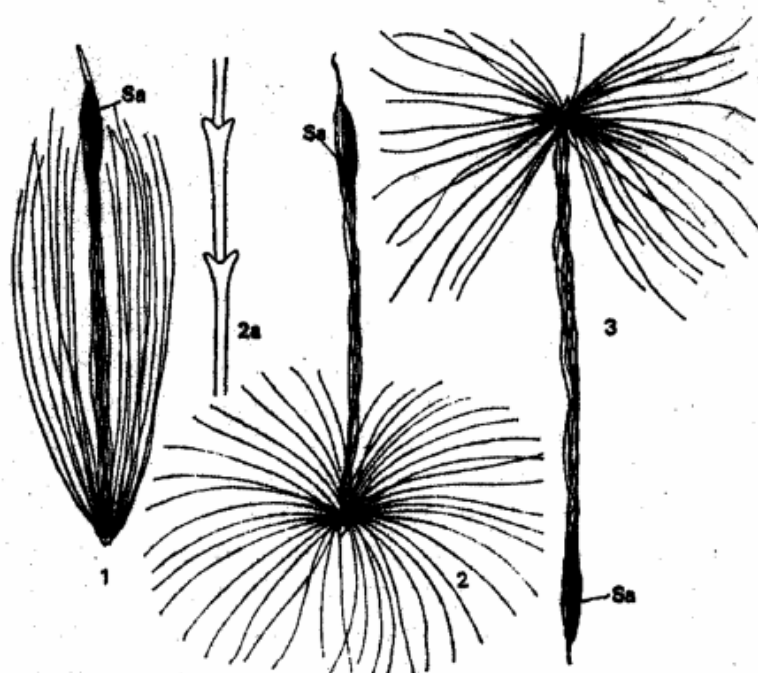


Fonte: Moreira *et al.*, 2006.

Os frutos podem ser secos, carnosos ou bagas. As sementes podem apresentar apêndices plumosos (Figura 6) ou aliformes, ou desprovidas de apêndices. A dispersão está diretamente relacionada aos diferentes tipos de frutos presentes na família, para sementes plumosas ou aladas presentes em frutos cápsula e são dispersos pelo vento, a nas bagas suculentas, cujas sementes não possuem apêndices, a dispersão é feita por animais (MOREIRA *et al.*, 2006).

É uma das poucas famílias em que a polinização por vertebrados predomina sobre a entomofilia (SAZIMA *et al.*, 2000), sendo a ornitofilia (aves, beija-flor) encontrada na maioria das espécies (SIQUEIRA-FILHO; MACHADO, 2006, VOSQUERITCHIAN; BUZATO, 2006). As abelhas (melitofilia) (ARAUJO *et al.*, 2004) e os morcegos (quiropterofilia) também são importantes agentes polinizadores pela presença de odor forte em muitas flores (CANELA; SAZIMA, 2005).

Figura 6 – Semente de bromélia com apêndices plumosos.



Fonte: Moreira *et al.*, 2006.

Nas bromélias a alogamia é favorecida, a exemplo da protoginia que é o amadurecimento do gineceu antes do androceu, ou a protandria que é o

amadurecimento do androceu antes do gineceu. Além destas, a fecundação cruzada é reforçada pela incompatibilidade encontrada entre as bromélias (BENZING, 2000). No gênero *Dyckia* a autocompatibilidade foi relatada em *Dyckia brevifolia* por Rogalski *et al.* (2009) observaram que esta espécie produz sementes por agamospermia, que é um tipo de reprodução assexual das plantas vasculares em que há formação de esporófito por meio de sementes, porém, sem fusão e formação de gametas, ou seja, o óvulo transforma-se em semente sem ser fecundado; além de outros mecanismos reprodutivos.

2.4 ASPECTOS DE PROPAGAÇÃO

A propagação vegetativa de espécies pode ser feita sexuada ou assexuadamente e o sistema de cruzamento por autogamia ou alogamia, no entanto, cada espécie possui um modo particular de reprodução (FREITAS, 2003). Conhecer o mecanismo reprodutivo é de fundamental importância na conservação da espécie em interesse (PEREIRA *et al.*, 2007).

Na família das Bromeliaceae já foi confirmado diversos mecanismos de reprodução, tendo relação com aspectos ecológicos e evolutivos das espécies. A propagação sexuada ocorre por meio da utilização de sementes, sendo que a germinação possui efetiva importância para manutenção da diversidade biológica no ambiente natural, como também para a produção de plantas para comercialização, porém, a limitada viabilidade das sementes é considerada como uma desvantagem neste tipo de propagação (DAQUINTA *et al.*, 1998; ARANDA-PERES; RODRIGUEZ, 2006). Em algumas bromélias, a propagação sexuada é considerada demorada, pois dependendo da espécie, a maturação da semente pode ocorrer até um ano após a polinização (STRINGHETA *et al.*, 2005).

Na reprodução assexuada ou vegetativa, formam-se brotos a partir da planta mãe que são emitidos após a floração da base da planta por estolhos ou rizomas, ou do interior da própria roseta. A formação de estolhos é característica para algumas espécies. Esse processo é observado em plantas de idades variadas, porém nem todas as plantas adultas de bromélias apresentam essa forma de reprodução (BENZING, 2000).

2.5 CARACTERÍSTICAS DAS SEMENTES

Estudar o potencial fisiológico das sementes é de fundamental importância para o entendimento do estabelecimento, sobrevivência e da regeneração natural das espécies, uma vez que, a germinação das sementes determina muitas vezes a distribuição das espécies em diferentes ambientes (FENNER; THOMPSON, 2005). Para que a germinação e o desenvolvimento das plântulas ocorram, deve-se oferecer às sementes substratos e ambiente adequado (WINKLER *et al.*, 2005).

Propagação de espécies nativas tem se intensificando nas últimas décadas em função da grande importância com problemas ambientais, enfatizando-se a necessidade de recuperação de áreas degradadas. Com isso, o conhecimento sobre manejo e análise de sementes para identificação de seus atributos físicos e fisiológicos devem ser estudados (ARAUJO NETO *et al.*, 2003).

As sementes retratam o ponto de encontro entre duas gerações da mesma espécie, apresentam características ecofisiológicas próprias, germinando apenas em condições favoráveis e é o material básico na propagação sexuada (SIMÃO, 1998).

Desenvolvem-se a partir de óvulos, dos quais foram fertilizados, após sofrerem uma série de transformações fisiológicas, morfológicas e funcionais até que a maturidade fisiológica seja alcançada, momento em que cessa a translocação dos assimilados da planta para as sementes. Ponto este em que a matéria seca da semente é máxima (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

A qualidade das sementes pode ser afetada pelas condições ambientais na qual estas foram produzidas. Estas condições podem ser sensibilizadas durante o desenvolvimento das sementes no campo, na colheita, na secagem, no beneficiamento e no armazenamento (MARCOS FILHO, 2015).

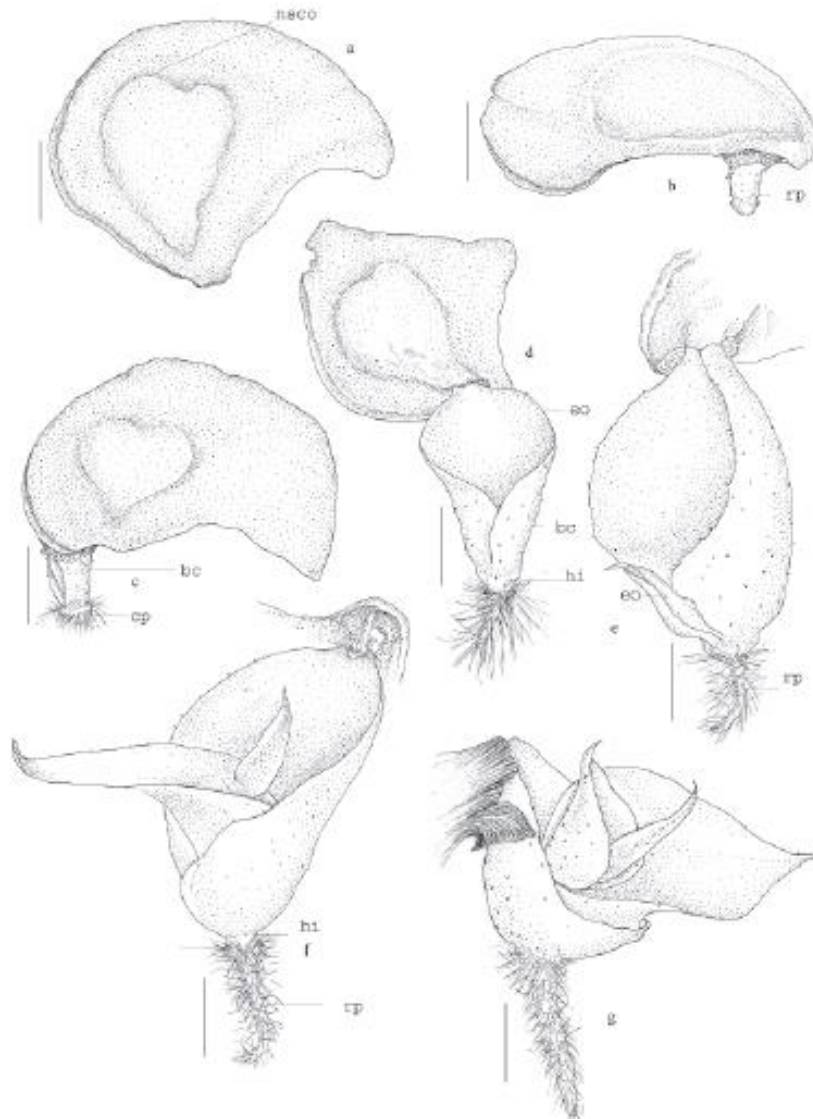
Uma semente de qualidade depende de fatores genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários, que irão garantir sua viabilidade (POPINIGIS, 1985). Os atributos genéticos são determinados pelos programas de melhoramento que realizam pesquisas de características desejáveis, como potencial de produção, resistência a estresses bióticos e abióticos entre outros (GERMANO, 2013).

Segundo Carvalho e Nakagawa (2012) a germinação é a saída do estado de repouso do embrião e a retomada de atividade metabólica até o momento em que o desenvolvimento do embrião e a emergência da plântula se torne independente das reservas contidas nas sementes. A germinação pode ser afetada por fatores extrínsecos e intrínsecos como disponibilidade de água, temperatura, pH do substrato, luz, oxigênio, maturidade fisiológica da semente, mecanismo de dormência, entre outros (MARCOS FILHO, 2015).

Pereira *et al.* (2008), desenvolveram um trabalho para fornecer informações sobre o tipo e o tempo médio de germinação, formação de plântulas, além de descrever a morfologia do desenvolvimento pós-seminal de seis espécies de Bromeliaceae. A seguir, segue descrição feita pelos autores, de uma espécie do gênero *Dyckia*:

Dyckia pseudococcinea: as sementes são pequenas (Figura 7a), ovaladas e achatadas, discóides, medindo aproximadamente 6,0 mm de comprimento e 5,0 mm de largura (peso de 1.000 sementes 0,345 g), aladas (com alas membráceas circulares em uma das extremidades) e com tegumento bege amarelado. Do ponto de vista morfológico, a germinação iniciou no terceiro dia de embebição, com rompimento dos tegumentos e protrusão da raiz primária (Figura 7b). As plântulas apresentam raiz primária, seguida da bainha cotiledonar aos oito dias; o colo é tenuamente delimitado por estreitamento (Figura 7c). A plântula normal é observada ao oitavo dia e possui bainha cotiledonar foliácea cupuliforme exibe o eófilo (Figura 7d). O hipocótilo é reduzido ou ausente (Figura 7d). A raiz primária é curta, robusta e pilosa (Figura 7e). A planta jovem aos 12 dias apresenta a raiz primária curta, colo delimitado por um estreitamento, hipocótilo reduzido ou ausente. A bainha cotiledonar foliácea cupuliforme com base profundamente fendida e bordos transpassados (Figura 7f); folhas cupuliformes subsequentes imbricadas em roseta (Figura 7g). Indumentos de pelos glandulares recobrem toda a planta.

Figura 7 - Morfologia da semente, do desenvolvimento pós-seminal e da plântula de *Dyckia pseudococcinea* L. B. Sm. a. Semente. b-c. Fases da germinação. d-e. Plântula normal. f-g. Planta jovem. nsco: núcleo seminífero cordiforme; cp: colo com pelos; co: colo; bc: bainha cotiledonar; hi: hipocótilo; eo: eófilo; rp: raiz primária. Barras = 1 mm.



Fonte: Pereira *et al.*, 2008.

Em função da fácil retirada do ambiente natural e da disponibilidade, poucas espécies de bromélias são produzidas em escala comercial e segundo Pereira, Cuquel; Panobianco (2010), algumas espécies já se encontram ameaçadas de extinção. Por esse motivo a propagação sexuada pode ser uma alternativa para reduzir o extrativismo.

2.5.1 Armazenamento de Sementes

Para haver preservação da biodiversidade, métodos de produção de mudas que preservem o meio ambiente e com custo reduzido devem ser desenvolvidos, a fim de preservar a diversidade genética, proporcionando aos extratores uma alternativa de propagação. A propagação sexuada pode ser influenciada por diversos fatores, como: estabelecimento da melhor maneira de processamento dos frutos; descrição do ponto de colheita dos mesmos; determinação de condições adequadas para germinação e armazenamento das sementes (PEREIRA *et al.*, 2010).

A maturidade fisiológica é o momento em que as sementes apresentam o maior potencial de qualidade, é neste momento em que as sementes se desligam da planta mãe (GARCIA *et al.*, 2004). A partir deste momento, inicia-se o processo de armazenamento, o qual tem por objetivo manter a qualidade das sementes durante este período (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

A qualidade física e fisiológica das sementes depende do grau de umidade das mesmas (NERY; CARVALHO; OLIVEIRA, 2004). Informações sobre o grau de umidade mais adequado para espécies nativas e ornamentais são escassas, gerando dificuldade na padronização dos procedimentos básicos dos resultados (RAMOS; BIANCHETTI, 1990).

A longevidade das sementes pode variar de acordo com seu genótipo, porém o grau de umidade e as condições de armazenamento determinam a conservação do potencial fisiológico (MARCOS FILHO, 2015). A umidade relativa do ar e a temperatura do local de armazenamento influenciam as taxas metabólicas das sementes (CARNEIRO; AGUIAR, 1993). Segundo Moraes (2000), as condições em que as sementes estão expostas e a sua espécie, são características que interferem na velocidade da perda da qualidade das sementes após sua maturidade fisiológica.

A deterioração é considerada um processo irreversível, ela pode ser diminuída com o armazenamento adequado (BAUDET, 2003). Conforme Marcos Filho (2015), o grau de umidade da semente está ligado à deterioração,

desse modo, o armazenamento deve ser conduzido de maneira que possa reduzir essa atividade.

O armazenamento pode variar conforme as condições ambientais, período de armazenamento, espécie, tipo de embalagem (AGUIAR *et al.*, 2001). A escolha da embalagem deve ser feita conforme condições de armazenamento, espécie, período e grau de umidade das sementes (MARCOS FILHO, 2015). As embalagens utilizadas devem diminuir a velocidade de deterioração, objetivando reduzir a respiração, mantendo o grau de umidade inicial das sementes armazenadas (TONIN; PEREZ, 2006). Assim sendo, espécies ornamentais necessitam de padronização de métodos de análise de sementes para o processo de armazenamento (ALVES *et al.*, 2008).

Em trabalho realizado com armazenamento de sementes, Peterbauer; Richter (2001) observaram que a germinação foi superior quando as sementes foram armazenadas em temperatura de 4 °C e que em baixas temperaturas houve melhor conservação dos componentes celulares, permitindo a disponibilização das reservas para a respiração da semente.

Pereira *et al.*, (2010) em estudos com germinação e armazenamento de sementes de *Nidularium innocentii*, observaram que a germinação diminuiu ao longo do armazenamento, porém as sementes permaneceram com alta porcentagem de germinação após 90 dias de armazenamento (acima de 80%). Com isso, as sementes mantiveram sua viabilidade, e o armazenamento das sementes pode ser uma prática benéfica para a produção de mudas via semente, uma vez que permite ao produtor fazer um planejamento da próxima semeadura, escalonando sua produção.

2.5.2 Tamanho de Sementes

O tamanho das sementes é um aspecto que deve ser levado em consideração na hora da escolha das sementes, sendo uma característica que pode afetar o vigor. Sementes maiores possuem maior quantidade de reservas e na maioria das vezes apresentam vantagens, em relação às pequenas, podendo ser mais vigorosas o que garante o crescimento mais rápido das raízes (POLLOCK; ROOS, 1972).

Carvalho; Nakagawa (2012) afirmam que nem sempre o tamanho da semente afeta a porcentagem e a velocidade de germinação, porém, geralmente, influencia o vigor das plântulas. A variação de tamanho e morfologia das sementes ocorre em função da forma do ovário, da espécie e das condições em que a planta mãe se desenvolveu durante a formação das sementes (MAYER; POLJAKOFF-MAYBER, 1963).

A separação das sementes por tamanho deve ser realizada para determinação da qualidade, buscando definir o tamanho ideal para multiplicação de cada espécie (FRAZÃO *et al.*, 1983). Em trabalho realizado por Duarte (2007), sementes de *Dyckia goehringii* Gross; Rauh apresentam desuniformidade no tamanho e na forma, de acordo com sua posição no fruto. Ainda com a mesma espécie, Duarte *et al.* (2010), verificaram que as sementes menores apresentaram porcentagem de germinação cerca de duas a quatro vezes menor em comparação as sementes maiores.

2.5.3 Criopreservação

A criopreservação é uma ferramenta para conservação do material biológico em temperaturas extremamente baixas (-196°C) em nitrogênio líquido ou em sua fase de vapor (-150°C) com a manutenção das características originais do material após o descongelamento (SANTOS, 2000). Conforme Bajaj (1995) é possível conservar por um longo período diversos materiais vegetais como pólen, sementes, embriões, raízes, bulbos, gemas e meristemas, de forma que por outros métodos não seria possível.

Este método reduz a taxa de deterioração, aumentando assim o tempo de armazenamento das sementes (STANWOOD; BASS, 1981; STANWOOD, 1985). A maioria das células dos tecidos vegetais possuem quantidades elevadas de água, o que provoca danos mecânicos às células, devido à formação de cristais de gelo intra e extracelular durante o congelamento (ENGELMANN, 2011), com isso a diminuição do conteúdo de água das células e tecidos é necessário antes da criopreservação.

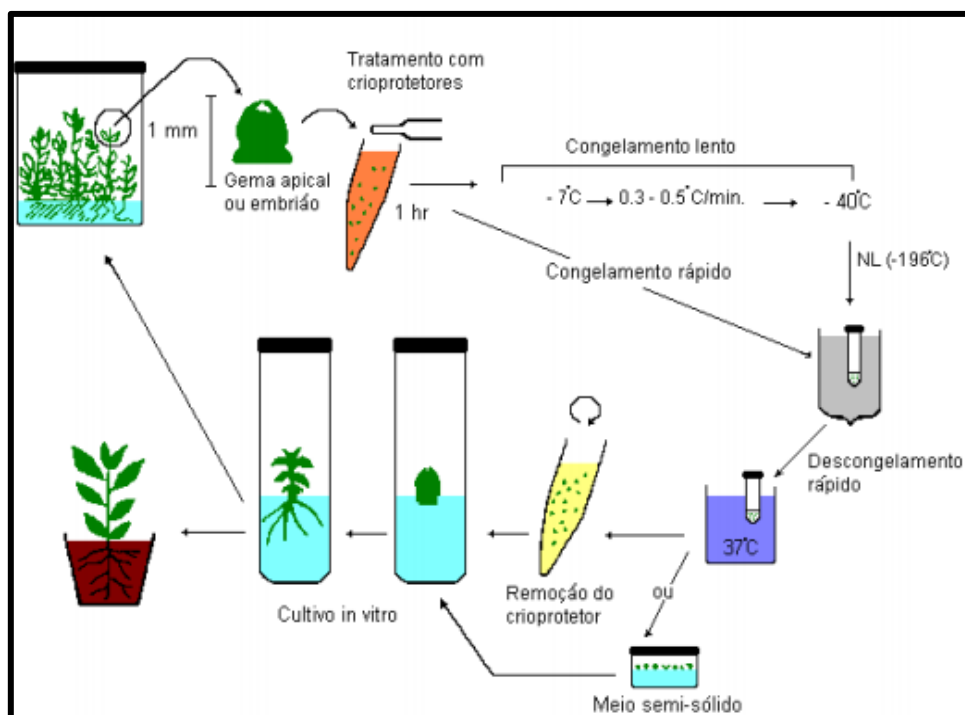
Para proteção destas células contra danos mecânicos durante o congelamento, surgiram os crioprotetores, que são substâncias de classe orgânica variada, agindo na célula durante o período de armazenamento a

baixas temperaturas, prevenindo a formação de gelo intra e extracelular e danos causados pela desidratação (HAN *et al.*, 2009).

A criopreservação pode ser realizada por dois métodos: método de congelamento lento e método de congelamento rápido (Figura 8). No congelamento lento, baixas taxas de resfriamento e baixas concentrações de crioprotetores são utilizadas, e no congelamento rápido (vitrificação), faz-se o uso de altas taxas de resfriamento e altas concentrações de crioprotetores (SARAGUSTY; ARAV, 2011).

Em estudo realizado com *Encholirium spectabile* Martius ex Schultes, Ferrari *et al.* (2016) obtiveram níveis de germinação acima de 90 % sem o uso de substâncias crioprotetoras, não havendo a necessidade de sua utilização. Tarré *et al.* (2007), em estudos realizados com sementes de duas espécies de bromélias, observaram que não houve efeito negativo na porcentagem de germinação, quando as mesmas foram dessecadas em sílica gel antes da criopreservação.

Figura 8 - Etapas do processo de criopreservação lento ou rápido.



Estudos com criopreservação de sementes de bromélias são escassos, havendo necessidade do desenvolvimento de pesquisas que envolvam estes testes com espécies desta família.

3 ARTIGO A: Tamanho de sementes no potencial fisiológico de bromélias Brasileiras do gênero *Dyckia* spp. Em risco de extinção.

3.1 RESUMO

As bromélias são consideradas plantas em evidência devido a sua utilização ornamental. Dentro dos frutos, são formadas sementes de diversos tamanhos. O tamanho das sementes é uma característica que deve ser levada em consideração, visto que ele pode afetar seu potencial fisiológico. O objetivo do estudo foi avaliar a germinação e o vigor de três espécies de bromélias Brasileiras do gênero *Dyckia* em função do tamanho das sementes. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em fatorial 3x3, sendo três espécies de *Dyckia* (*D. brevifolia*, *D. beateae* e *D. excelsa*) e três tamanhos de sementes (pequena (P), média (M) e grande (G)). Para análise do potencial fisiológico das sementes foram realizados testes de primeira contagem de germinação, germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento e massa seca de plântulas. Os dados foram analisados quanto à normalidade e homogeneidade e ao atenderem seus pressupostos, submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O tamanho das sementes influencia o potencial fisiológico, sendo que, sementes maiores possuem maior germinação e vigor. A espécie *D. brevifolia*, possui sementes de melhor qualidade (97% de germinação).

Palavras-chave: Bromeliaceae. *Dyckia beateae*. *Dyckia brevifolia*. *Dyckia excelsa*. Germinação. Vigor.

3.2 ABSTRACT

Bromeliads are considered plants in evidence due to their ornamental use. Within the fruits, seeds of different sizes are formed. Seed size is a characteristic that must be taken into account, as it can affect its physiological potential. The objective of the study was to evaluate the germination and vigor of three species of bromeliads Brasileiras of the genus *Dyckia* according to the size of the seeds. A completely randomized 3x3 factorial design was adopted, with three species of *Dyckia* (*D. brevifolia*, *D. beateae* and *D. excelsa*) and three seed sizes (small (P), medium (M) and large (G)). For the analysis of the physiological potential of the seeds, tests of first germination count, germination, germination speed index, length and dry mass of seedlings were performed. The data were analyzed for normality and homogeneity and when meeting their assumptions, subjected to analysis of variance by the F test ($p \leq 0.05$) and the means compared by the Tukey test at 5% probability. The size of the seeds influences the physiological potential, and larger seeds have greater germination and vigor. The species *D. brevifolia*, has better quality seeds (97% of germination).

Key words: Bromeliaceae. *Dyckia beateae*. *Dyckia brevifolia*. *Dyckia excelsa*.

Germination. Force.

3.3 INTRODUÇÃO

A família Bromeliaceae é constituída por três subfamílias (Bromelioideae, Tillandsioideae e Pitcairnioideae) e distribuídas em 52 gêneros e 3320 espécies (THE PLANT LIST, 2020). Os representantes dessa família apresentam inflorescências vistosas e folhas dispostas em roseta, com bainha alargada na base, propiciando a formação de um reservatório de água e nutrientes em algumas espécies, o qual serve de nutrição para as bromélias e como microambiente para muitos animais (SILVA, 2009; SILVA; SCATENA, 2011).

O cultivo de bromélias começou na década de 1970 no Brasil, quando foi introduzida como planta ornamental, tendo uma boa aceitação no mercado paisagístico. A comercialização e uso dessas plantas em projetos de jardinagem e paisagismo vem sendo valorizado, devido suas belas cores, formas exóticas, custo de baixa manutenção e adaptação a pequenos jardins (NEGRELLE; MITCHELL; ANACLETO, 2012).

As bromélias são consideradas plantas em evidência na comercialização do Brasil, por conta da grande diversidade genética, variação morfológica e arquitetura foliar. No entanto, em função da retirada predatória de exemplares e da devastação de seus ambientes naturais, ocorre uma drástica redução ou até mesmo extinção de algumas espécies (PEREIRA *et al.*, 2008).

As plantas pertencentes ao gênero *Dyckia* são integrantes da subfamília Pitcairnioideae e podem ser encontradas nos biomas da Mata Atlântica, Restinga, Caatinga, Campos Rupestres e Vegetação de Cerrado (LEME *et al.*, 2012), composto por aproximadamente 160 espécies (LUTHER, 2014). As plantas desse grupo são caracterizadas por não possuírem o “tanque central”, formando uma roseta com folhas geralmente coriáceas e suculentas além da presença de espinhos marginais bem desenvolvidos (PINANGÉ, 2013).

As espécies brasileiras e nativas *Dyckia brevifolia* Beker, *Dyckia beateae* E. Gross & Rauh e *Dyckia excelsa* Leme, possuem importância ornamental por apresentarem inflorescências laterais racemosas, simples ou ramificadas, com coloração amarela, laranja ou vermelha (LEME *et al.*, 2012).

Sementes dessas espécies devem ser colhidas logo que as cápsulas iniciam a deiscência, pois são aladas e facilmente dispersadas pelo vento (DUARTE, 2007). Ainda que a produção de sementes das espécies em estudo gera uma quantidade significativa, ainda há necessidade de informações sobre o seu potencial fisiológico.

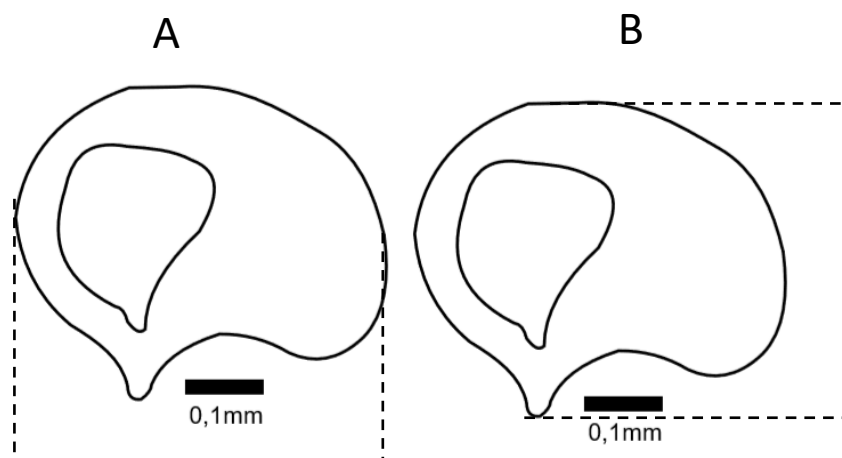
O tamanho das sementes é uma característica que deve ser levada em consideração quando ocorre sua seleção para germinação, visto que ele pode afetar seu potencial fisiológico. Sementes maiores apresentam vantagem em relação às menores, pois possuem maior quantidade de reservas, germinam mais rápido e são mais vigorosas (DUARTE *et al.*, 2010). Diante do exposto, objetivou-se avaliar a germinação e o vigor de três espécies de bromélias do gênero *Dyckia* spp. em função do tamanho das sementes.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido na cidade de Londrina-PR com sementes de bromélia do gênero *Dyckia* coletadas de uma população de plantas localizada no mesmo município 23°19'42" S, 51°12'11" W e 574 metros de altitude. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, em fatorial 3x3, sendo três espécies de bromélia do gênero *Dyckia* (*D. brevifolia*, *D. beateae* e *D. excelsa*) e três tamanhos de sementes (P, M e G).

A colheita das sementes ocorreu de forma manual, no momento em que as bagas abrissem e então a dispersão ocorresse de forma natural. Após, as mesmas foram armazenadas em uma câmara fria (9°C com variação de 1°C) até o momento da realização dos testes (60 dias). Para a caracterização física, as sementes foram separadas em três lotes: sementes pequenas (P), médias (M) e grandes (G) (Figuras 1 e 2) sendo avaliadas individualmente uma amostra de 20 sementes de cada lote quanto à lagura e o comprimento (Figura 3), com o auxílio de um paquímetro digital.

Figura 9 – Ilustração das medidas de largura (A) e comprimento (B) de sementes de bromélias do gênero *Dyckia*.



Fonte: Adaptado de Strehli; beheregaray (2006).

Figura 10 – Valores médios da largura das sementes de bromélias, *Dyckia brevifolia*, *Dyckia beateae* e *Dyckia excelsa* separadas em três lotes de sementes: pequenas (P), médias (M) e grandes (G).

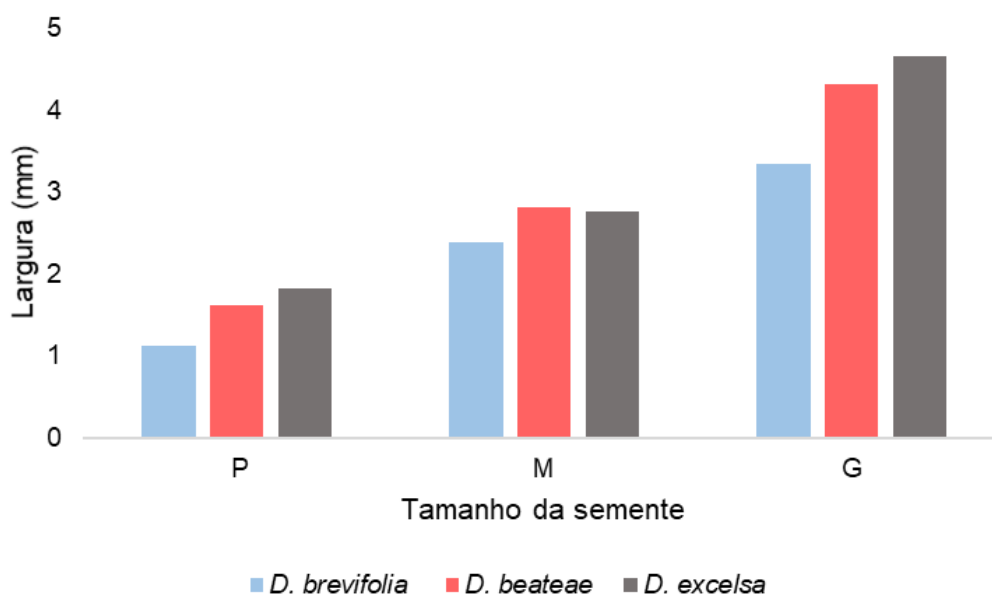
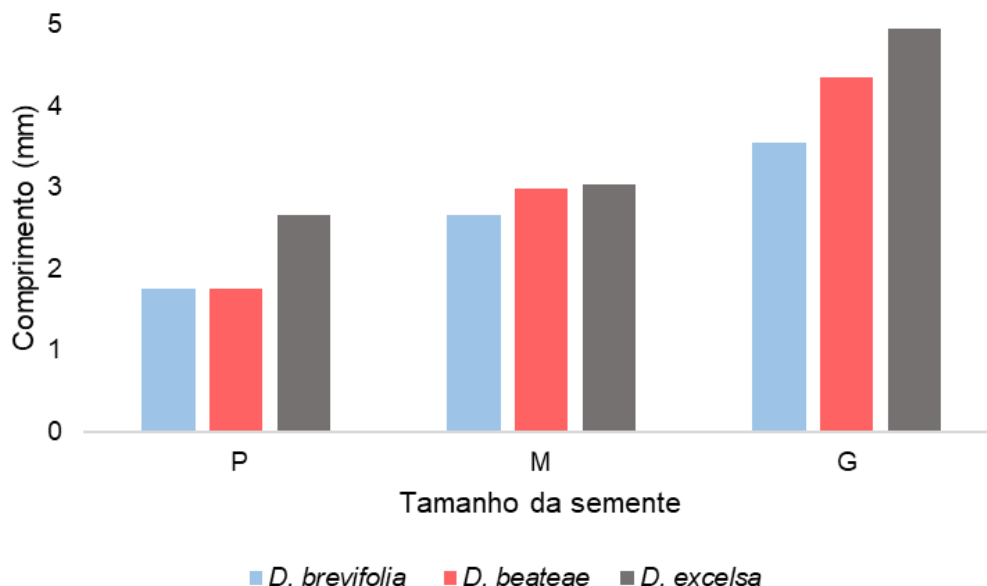


Figura 11– Valores médios do comprimento das sementes de bromélias, *Dyckia brevifolia*, *Dyckia beateae* e *Dyckia excelsa* separadas em três lotes de semente: pequenas (P), médias (M) e grandes (G).



Posteriormente a avaliação do tamanho das sementes, os seguintes testes foram realizados: primeira contagem de germinação, germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento e massa seca de plântulas.

A primeira contagem de germinação (PCG) foi conduzida com o teste de germinação, computando-se a protrusão da raiz primária ao terceiro (3°) dia após a sementeira. Os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais (NAKAGAWA, 1999).

No teste de germinação (GER), 4 repetições de 50 sementes foram semeadas sobre papel mata borrão (10,5 x 10,5 cm) umedecido com água destilada, na quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco e colocados no interior de caixas transparentes de plástico (11,5 x 11,5 x 3,5 cm).

Após serem acondicionadas em sacos plásticos, foram mantidas em câmaras de germinação tipo BOD conforme as recomendações das Regras de Análise de Sementes RAS (BRASIL, 2009), para outras espécies de sementes pequenas e avaliadas conforme as mesmas recomendações, sendo consideradas normais as plântulas que mostraram potencial para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais. Os resultados expressos em

porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

Para o índice de velocidade de germinação (IVG) utilizou-se o mesmo teste de germinação. A contagem de sementes germinadas foi realizada diariamente até o final do teste de germinação, considerando aquelas com no mínimo 2 mm de comprimento de radícula seguindo equação descrita por Maguire (1962): $IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$, em que: G1, G2 e Gn = número de plântulas normais, computadas na primeira, segunda e última contagem; N1, N2, Nn = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem (NAKAGAWA, 1999).

Adicionalmente, ao final do teste de germinação (9º dias após a semeadura) foi realizada avaliação do comprimento de 10 plântulas (COMP) por meio da medição das plântulas normais com auxílio de régua graduada em centímetro (cm), com resultados expressos em centímetros (NAKAGAWA, 1999).

A massa seca de plântula (MS) foi determinada juntamente com o teste de comprimento. Após a medição do comprimento, as plântulas foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e mantidas em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C até atingirem peso constante, e os resultados expressos em $mg.plântula^{-1}$ (NAKAGAWA, 1999).

Os dados foram analisados pelo software Sisvar quanto à normalidade e homogeneidade e ao atenderem seus pressupostos foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.5 RESULTADOS

Sementes de *D. brevifolia*, *D. beatae* e *D. excelsa* classificadas como pequenas, apresentaram valores médios de 1,53 mm de largura e 2,06 mm de comprimento. Para sementes médias, os valores variam de 2,66 mm de largura e 2,82 mm de comprimento, e sementes classificadas como grandes, 4,10 mm de largura e 4,27 mm de comprimento.

A tabela 1 apresenta os valores do quadrado médio das variáveis primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GER), índice

de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (COMP) e massa seca de plântula (MS) de sementes de bromélias (*D. brevifolia*, *D. beateae* e *D. excelsa*) em função do comportamento fisiológico das sementes de diferentes tamanhos. Verifica-se interação significativa ($p \leq 0,05$) entre os fatores espécie (E) e tamanho (T) para todas as variáveis analisadas.

Tabela 1 – Análise de variância com valores do quadrado médio das variáveis primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GER), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (COMP) e massa seca de plântula (MS) de bromélias (*Dyckia brevifolia*, *Dyckia beateae* e *Dyckia excelsa*) em função do comportamento fisiológico das sementes de diferentes tamanhos. Londrina – PR, 2021.

Fonte de Variação	Quadrado Médio				
	PCG	GER	IVG	COMP	MS
Espécie (E)	1256,86 **	6146,77 **	464,84 **	0,0075 ^{ns}	0,000005 **
Tamanho (T)	576,69 **	18408,44 **	490,86 **	0,3396 **	0,000014 **
E X T	406,02 **	1562,61 **	24,14 **	0,0579 **	0,000008 **
CV	24,47	14,93	17,16	13,17	24,78

**Significativo a 1%; *Significativo a 5%; ^{ns} Não significativo pelo teste F ($p \leq 0,05$).

Sementes pequenas médias e grandes de *D. brevifolia* apresentam maiores valores para PCG em comparação a *D. beateae* e *D. excelsa*. Sementes grandes de *D. brevifolia*, apresentaram maiores médias para a variável PCG em comparação as médias e pequenas (Tabela 2).

Tabela 2 – Interação entre os fatores espécie (*Dyckia brevifolia*, *Dyckia beateae* e *Dyckia excelsa*) e tamanho de semente (pequena, média e grande) para as variáveis primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GER), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (COMP) e massa seca de plântula (MS). Londrina - PR, 2021.

EspécieXTamanho	Pequena	Média	Grande
	PCG (%)		
<i>D. excelsa</i>	2,00 Ba	7,75 Aba	5,00 Ba
<i>D. brevifolia</i>	13,00 Ab	7,50 Ac	42,00 Aa
<i>D. beateae</i>	2,00 Ba	2,00 Ba	4,00 Ba
	GER (%)		
<i>D. excelsa</i>	2,00 Bc	41,00 Bb	94,50 Aa
<i>D. brevifolia</i>	43,00 Ab	89,50 Aa	97,00 Aa
<i>D. beateae</i>	2,00 Bb	6,50 Cb	88,50 Aa
	IVG		
<i>D. excelsa</i>	0,33 Bc	5,64 Bb	13,69 Ba
<i>D. brevifolia</i>	9,01 Ac	18,12 Ab	21,45 Aa
<i>D. beateae</i>	0,33 Bb	0,73 Cb	12,59 Ba
	COMP (cm)		
<i>D. excelsa</i>	0,20 Bb	0,60 Aa	0,65 Aa
<i>D. brevifolia</i>	0,45 Aa	0,54 Aa	0,49 Ba
<i>D. beateae</i>	0,20 Bb	0,52 Aa	0,63 Aa
	MS (mg)		
<i>D. excelsa</i>	0,0001 Bb	0,0030 Aa	0,0033 Aa
<i>D. brevifolia</i>	0,0027 Aab	0,0032 Aa	0,0030 Aa
<i>D. beateae</i>	0,0001 Bb	0,0005 Bb	0,0037 Aa

*Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O maior poder germinativo foi observado em sementes grandes para as três espécies estudadas; seguida de médias e pequenas. Sementes pequenas e médias de *D. brevifolia* apresentam maior porcentagem de germinação em comparação as demais espécies estudadas (Tabela 2).

Os maiores valores de IVG são observados em *D. brevifolia* para todos os tamanhos de sementes sendo esta espécie considerada mais vigorosa que *D. beateae* e *D. excelsa*. Também pode-se observar que sementes grandes de todas espécies apresentaram maior IVG (Tabela 2).

Considerando as variáveis COMP e MS, sementes classificadas como médias e grandes, apresentam maior vigor em todas as espécies estudadas. Sementes pequenas de *D. brevifolia*, possuem plântulas maiores e com mais massa seca em relação as demais espécies com o mesmo tamanho (Tabela 2).

3.6 DISCUSSÃO

A separação das sementes por classe de tamanho é uma ferramenta importante para determinar a qualidade das mesmas, e encontrar o tamanho de semente ideal para multiplicação das espécies.

Em trabalho realizado com sementes de *D. duckey* L. B. Smith e *D. racemosa* Baker, verificou-se médias de aproximadamente 6,12 mm de largura e 4,65 mm de comprimento (SILVA; SCATENA, 2011). Conforme Strehli; Beheregaray (2006), em estudo realizado com morfologia de sementes do gênero *Dyckia*, verificam que *Dyckia* sp. possuem em média de 3,85 a 4,70 mm de largura e 2,80 a 3,95 mm de comprimento.

Em cápsulas (fruto seco) de bromélias, podem ocorrer sementes de diversos tamanhos. Estas alterações de morfologia e tamanho das sementes, são decorrentes da forma do ovário, da particularidade de formação de sementes de cada espécie e das condições de crescimento e desenvolvimento da planta mãe (MAYER; POLJAKOFF-MAYBER, 1963).

Em trabalho realizado com sementes *D. goehringii* Gross & Rauh, Duarte (2007), ressalta que as sementes em estudos possuem desuniformidade na forma e no tamanho de acordo com a posição do fruto. Carvalho e Nakagawa (2012) destacam que o tamanho das sementes nem sempre é o fator que afeta a germinação, no entanto, geralmente este influencia no vigor das plântulas.

O potencial fisiológico das sementes de *D. brevifolia*, *D. beateae* e *D. excelsa* foi afetado pelo tamanho das sementes. Para sementes grandes, houve diferença significativamente superior para PCG, GER, IVG, COMP e MS.

Plântulas provenientes de sementes grandes foram mais vigorosas devido a aceleração no metabolismo respiratório das reservas durante o processo de germinação (MELO *et al.*, 2004). De forma similar, as sementes

maiores de *D. goehringii* Gross & Rauh, possuem germinação (94%) duas vezes superior em comparação as menores (40,25%) (DUARTE *et al.*, 2010). O mesmo autor ainda ressalta que atingiram, em média, valores três vezes superiores para as variáveis de vigor massa seca (sementes pequenas 0,09g e sementes grandes 0,26g) e fresca de sementes (sementes pequenas 0,10g e sementes grandes 0,30g).

Sementes grandes apresentaram maiores médias de PCG, GER, IVG e MS, também Castro e Dutra (1997) em trabalho realizado com sementes de *Leucaena leucocephala* Lam., observaram que a germinação foi mais rápida em sementes de maior tamanho.

Em relação a germinação observa-se os maiores percentuais em sementes classificadas como grandes; Martins *et al.* (2000) em estudo com *Euterpe espirosantensis* Fernandes, constataram que os maiores valores de germinação foram para sementes grandes, também, Aguiar *et al.* (1996) observaram que a germinação das sementes grandes (72%) de *Caesalpinia echinata* Lam., foi aproximadamente três vezes maior que a das pequenas (36%). Além disso, Biruel (2001), verificou influência positiva de sementes de maior largura de *Caesalpinia férrea* Martius, sobre sua germinação.

A maior velocidade de germinação (IVG) foi observada em sementes maiores; resultados semelhantes foram obtidos com sementes de *Paullinia cupana* Kunth (FRAZÃO *et al.*, 1981) e de *Eucalyptus maculata* Hook (SILVA *et al.*, 1994), em que as sementes maiores apresentaram índices de velocidade de germinação superiores aos daquelas de menor tamanho.

Em relação aos resultados de comprimento e massa seca de plântulas, pode-se observar que as plântulas mais vigorosas foram provenientes de sementes maiores. Resultados semelhantes foram obtidos por Alves *et al.* (2005) com sementes de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth, onde sementes maiores acumularam maior massa seca (0,005g) em comparação as menores (0,003g). Ferreira e Torres (2000), verificaram que o comprimento médio da raiz primária e das plântulas de *Acacia senegal* Willd, aumentou com o tamanho da semente. Fleig; Rigo (1998), com sementes de *Euterpe edulis* Mart., obtiveram os maiores valores de massa seca de plântulas originadas de sementes de maior tamanho (sementes pequenas 0,21g; médias 0,26g; e grandes 0,32g).

A relevância do tamanho das sementes fundamenta-se no fato de que sementes maiores, produzem plântulas mais vigorosas, porque possuem maior quantidade de reservas, maior níveis de hormônios e maior embrião. A possibilidade de sucesso no estabelecimento de plântulas depende das reserva, sendo este favorecido com uma maior quantidade, possibilitando sua sobrevivência por um período maior em condições ambientais; pois ainda não utilizam das reservas nutricionais e hídricas do solo e a realização da fotossíntese (HAIG; WESTOBY, 1991).

O presente estudo é uma contribuição para o conhecimento das bromélias do gênero *Dyckia*, estabelecendo parâmetros para a condução de testes do potencial fisiológico de sementes de *D. brevifolia*, *D. beateae* e *D. excelsa*, além de resaltar aspectos relacionados ao tamanho das sementes. Novos estudos relacionados com armazenamento de sementes de bromélias devem ser desenvolvidos, tendo em vista, que trata-se de espécies nativas.

3.7 CONCLUSÕES

O tamanho das sementes de *D. brevifolia*, *D. beateae* e *D. excelsa* influencia o potencial fisiológico.

As sementes grandes apresentam maior porcentagem de germinação e são mais vigorosas se comparadas as sementes pequenas e médias; originando plântulas mais vigorosas.

Sementes de *D. brevifolia* apresentam maior viabilidade se comparadas a sementes de *D. beateae* e *D. excelsa*.

4 ARTIGO B: Potencial fisiológico de sementes de reófitas *Dyckia* (Bromeliaceae) armazenadas por diferentes períodos, temperaturas e embalagens

4.1 RESUMO

Uma grande quantidade de bromélias é retirada de seus ambientes naturais de forma não sustentável, o que tem provocado ameaça de extinção para algumas espécies. Há carência de informações que abordem métodos de produção de mudas, a fim de preservar a diversidade genética, possibilitando aos produtores uma alternativa de propagação. Identificar as condições ideais para o armazenamento de sementes torna-se relevante, uma vez que o potencial fisiológico depende de fatores como: temperatura, período e embalagem de armazenamento. O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial fisiológico de sementes de bromélias *Dyckia*, armazenadas em diferentes períodos, embalagens e temperaturas. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em fatorial 3x2x3, sendo três embalagens para armazenamento (polietileno, polipropileno e papel 'Kraft'), duas temperaturas (ambiente 25°C e controlada (câmara fria) 10°C) em três períodos de armazenamento (30, 60 e 90 dias). As espécies (*D. brevifolia* e *D. beateae*) foram testadas separadamente. Foram avaliadas a primeira contagem de germinação, germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento e massa seca de plântulas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O armazenamento 25°C ou 10°C, por um período de 30 dias, é eficaz para manutenção do vigor de sementes de *D. beateae*, condicionadas tanto em embalagens de polietileno quanto de polipropileno. Para sementes de *D. brevifolia*, o armazenamento em embalagens de polietileno e polipropileno em ambas temperaturas e períodos testados apresentam alto vigor.

Palavras-chave: Armazenamento. *Dyckia beateae*. *Dyckia brevifolia*. Germinação. Vigor.

4.2 ABSTRACT

A large number of bromeliads are being removed from their natural environments in an unsustainable manner, which has caused an extinction threat for some species. There is a lack of information on methods of seedling production in order to preserve genetic diversity, allowing producers an alternative for propagation. Identifying the ideal conditions for seed storage becomes relevant, since the physiological potential depends on factors such as: temperature, period and storage packaging. The objective of the work was to evaluate the physiological behavior of *Dyckia* bromeliad seeds, stored in different periods, packaging and environments. The experimental design was completely randomized in a 3x2x3

factorial, with three packages for storage (polyethylene, polypropylene and 'Kraft' paper), two temperatures (ambient and controlled (cold chamber)) in three storage periods (30, 60 and 90 days). The species (*D. brevifolia* and *D. beateae*) were tested separately. The first germination count, germination, germination speed index, length and seedling dry mass were evaluated. The data were subjected to analysis of variance and the means compared by the Tukey test at 5% probability. Storage at 25°C or 10°C, for a period of 30 days, is effective for maintaining the vigor of *D. beateae* seeds, conditioned in both polyethylene and polypropylene packaging. For seeds of *D. brevifolia*, storage in polyethylene and polypropylene packaging at both temperatures and periods tested is more vigorous.

Key words: Storage. *Dyckia beateae*. *Dyckia brevifolia*. Physiological Potential.

4.3 INTRODUÇÃO

A família botânica Bromeliaceae possui 3140 espécies distribuídas em 58 gêneros (GIVNISH *et al.*, 2011). A maior diversidade encontra-se na América do Sul, com cerca de 73% dos gêneros e 40% das espécies. Estima-se que mais de 90 espécies de bromélias são utilizadas como plantas ornamentais de grande valor comercial, fonte de alimentos, além de apresentarem propriedades medicinais (BERED *et al.*, 2008).

No Brasil as bromélias se distribuem em 51 gêneros e 1400 espécies, sendo 23 gêneros e 1196 espécies endêmicas. Entre os estados com a maior presença de espécies destacam-se a Bahia (362), Minas Gerais (334), Espírito Santo (329) e Rio de Janeiro (321) (REFLORA, 2020).

O gênero *Dyckia* (Figura 1) pertence a subfamília Pitcairnioideae e possui mais de 160 espécies (GOUDA *et al.*, 2017), sendo que 144 destas ocorrem no Brasil (FORZZA *et al.*, 2015). São terrícolas ou rupícolas, apresentando características xeromorfas, e crescendo em diferentes altitudes, incluindo as elevadas (GIVNISH *et al.*, 2011).

Em virtude da procura por bromélias para uso paisagístico, plantas estão sendo retiradas de seus ambientes naturais de forma não sustentável, o que tem ocasionado ameaça de extinção para algumas espécies (RODRIGUES *et al.*, 2007).

Embora o grande potencial ornamental poucas espécies são produzidas em escala comercial. Desta maneira, torna-se necessário

estabelecer um sistema de cultivo de bromélias visando suprir a crescente demanda do mercado (PEREIRA *et al.*, 2010).

Para um grande número de espécies cultivadas existem recomendações para condução do teste de germinação, entretanto, espécies nativas ornamentais carecem informações. A germinação de sementes é um aspecto pouco estudado na reprodução de bromélias (PEREIRA *et al.*, 2010).

O conhecimento sobre o armazenamento de sementes pode proporcionar aos produtores o planejamento da próxima semeadura e o escalonamento da produção (GEMAQUE *et al.*, 2002). Identificar as condições ideais para o armazenamento de sementes torna-se relevante, uma vez que o potencial fisiológico das mesmas depende de vários fatores, tais como temperatura, embalagem e período de armazenamento (MELO *et al.*, 2007).

As embalagens utilizadas para o armazenamento são consideradas eficientes quando reduzem a velocidade da deterioração das sementes, por meio da limitação da respiração e manutenção da umidade das mesmas (MATOS *et al.*, 2008). A temperatura é outro fator que deve ser levado em consideração, pois normalmente as baixas temperaturas auxiliam na conservação do potencial fisiológico pelo fato de atuar sobre a atividade respiratória das sementes (VILLELA; PEREZ, 2004).

Há carência de informações que abordem métodos de produção de mudas, a fim de preservar a diversidade genética, possibilitando aos produtores uma alternativa de propagação. Informações sobre condições de armazenamento de espécies ornamentais nativas são escassas, havendo necessidade de estudos que estabeleçam o tempo, a temperatura e a melhor embalagem para o armazenamento dessas sementes.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial fisiológico de sementes de bromélias *Dyckia*, armazenadas por diferentes períodos (30, 60 e 90 dias), embalagens (polietileno, polipropileno e papel 'Kraft'), e temperaturas (ambiente 25°C e controlada (câmara fria) 10°C).

Figura 12 – A: Plantas de *Dyckia brevifolia*; B: Sementes de *Dyckia brevifolia*.



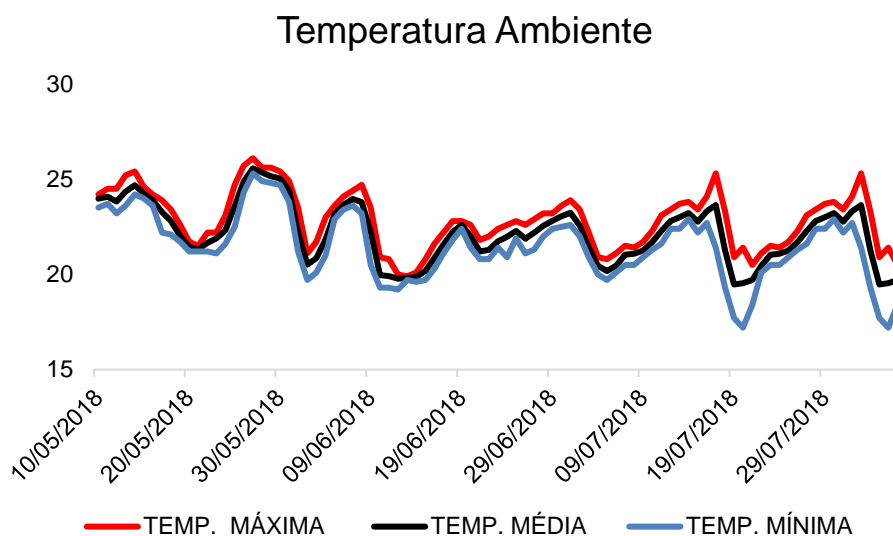
Fonte: próprio autor.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no município de Londrina-PR; com sementes de *D. brevifolia* e *D. beateae* coletadas de uma população de plantas natural localizada no mesmo município 23°19'42" S, 51°12'11" W e 574 metros de altitude. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, em fatorial 3x2x3, sendo três embalagens para armazenamento (polietileno, polipropileno e papel 'Kraft'), duas temperaturas (ambiente 25°C e controlada (câmara fria) 10°C) em três períodos de armazenamento (30, 60 e 90 dias). As espécies de bromélia citadas acima foram testadas separadamente.

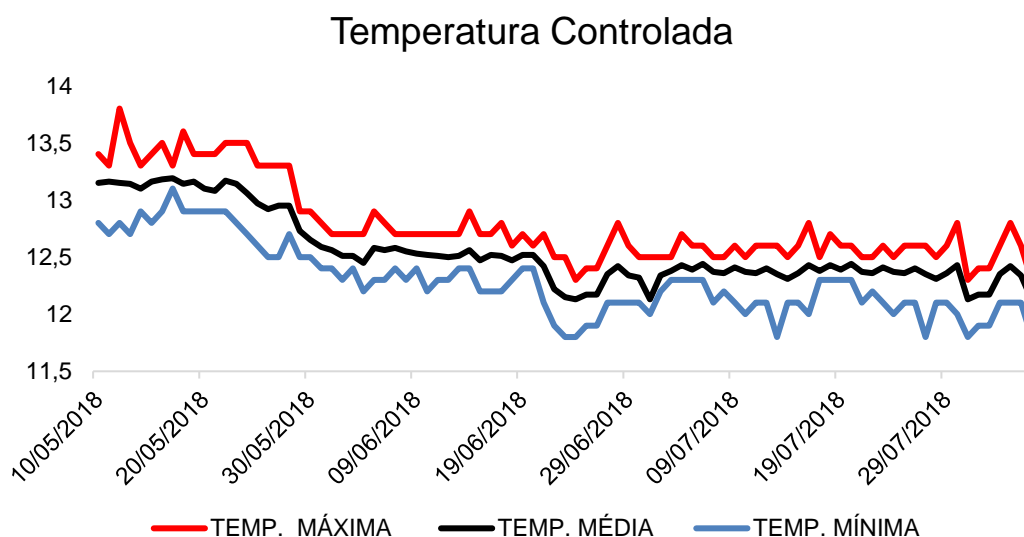
Os dados de temperatura estão apresentados nas figuras 13 e 14 obtidas por monitoramento via datalogger portátil HT-500 posicionado no local de armazenamento à 2,5 m de altura do solo.

Figura 13 – Temperaturas (°C) máxima (TEMP. MÁXIMA), média (TEMP. MÉDIA) e mínima (TEMP. MÍNIMA), e ao longo do período experimental. Londrina-PR, 2021.



Fonte: próprio autor

Figura 14 – Temperaturas (°C) máxima (TEMP. MÁXIMA), média (TEMP. MÉDIA) e mínima (TEMP. MÍNIMA), e ao longo do período experimental. Londrina-PR, 2021.



Fonte: próprio autor

A colheita das sementes ocorreu de forma manual, no momento

em que as bagas abrissem e então a dispersão ocorresse de forma natural. Após, as mesmas foram armazenadas em uma câmara fria (9°C com variação de 1°C) até o momento da realização dos testes (60 dias). Posteriormente, foram armazenadas nas devidas embalagens e temperaturas, e realizadas as seguintes avaliações: primeira contagem de germinação, germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento e massa seca de plântulas.

A primeira contagem de germinação (PCG) foi conduzida com o teste de germinação, sendo contabilizada no momento da protrusão da raiz primária ao terceiro (3°) dia após a semeadura. Os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais (NAKAGAWA, 1999).

No teste de germinação (GER), 4 repetições de 50 sementes foram semeadas sobre papel mata borrão (10,5 x 10,5 cm) umedecido com água destilada, na quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco e colocadas no interior de caixas transparentes de plástico (11,5 x 11,5 x 3,5 cm). Após serem acondicionadas em sacos plásticos, foram mantidas em câmaras de germinação tipo BOD conforme recomendações das Regras de Análise de Sementes RAS (BRASIL, 2009), para outras espécies de sementes pequenas e avaliadas conforme as mesmas recomendações, sendo consideradas normais as plântulas que mostraram potencial para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais. Os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

Para determinação do índice de velocidade de germinação (IVG) utilizou-se do teste de germinação, por meio da contagem de sementes germinadas realizada diariamente até o final do teste, considerando aquelas com no mínimo 2 mm de comprimento de radícula seguindo equação descrita por Maguire (1962): $IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$, em que: G1, G2 e Gn = número de plântulas normais, computadas na primeira, segunda e última contagem; N1, N2, Nn = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem (NAKAGAWA, 1999).

Adicionalmente, ao final do teste de germinação (9° dias após a semeadura) foi realizada avaliação do comprimento de 10 plântulas (COMP) por meio da medição das plântulas normais com auxílio de régua graduada em centímetro (cm), com resultados expressos em cm.plântula^{-1} (NAKAGAWA, 1999).

A massa seca de plântula (MS) realizada após a medição do comprimento, as plântulas foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e mantidas em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C até atingirem peso constante, e os resultados expressos em mg.plântula⁻¹ (NAKAGAWA, 1999).

Os dados foram analisados quanto à normalidade e homogeneidade e ao atenderem seus pressupostos foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$) e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade utilizando o software Sisvar.

4.5 RESULTADOS

A tabela 3 apresenta os valores de quadrado médio das variáveis PCG, GER, IVG, COMP e MS de sementes da bromélia *D. beateae* armazenadas em diferentes, períodos, temperaturas e embalagens. Verifica-se diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre período, temperatura e embalagem de armazenamento para a variável PCG. Também houve interação para o fator período de armazenamento de forma isolada para as características IVG, COMP e MS.

Tabela 3 – Análise de variância com valores do quadrado médio das variáveis primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GER), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (COMP) e massa seca de plântula (MS) de sementes bromélias (*D. beateae*) armazenadas em diferentes períodos, temperaturas e embalagens. Londrina – PR, 2021.

Quadrado Médio					
Fonte de Variação	PCG	GER	IVG	COMP	MS
Período (P)	2098,66**	84,72 ^{ns}	54,34*	0,04*	0,000012**
Temperatura (T)	14,22 ^{ns}	138,88 ^{ns}	16,28 ^{ns}	0,018 ^{ns}	0,000004 ^{ns}
Embalagem (E)	79,16**	26,38 ^{ns}	12,51 ^{ns}	0,012 ^{ns}	0,000003 ^{ns}
P x T	30,88*	26,38 ^{ns}	5,28 ^{ns}	0,022 ^{ns}	0,000003 ^{ns}
P x E	40,83**	72,74 ^{ns}	2,96 ^{ns}	0,009 ^{ns}	0,000002 ^{ns}
T x E	26,72*	18,05 ^{ns}	3,10 ^{ns}	0,006 ^{ns}	0,000004 ^{ns}
P x T x E	86,38**	25,86 ^{ns}	7,04 ^{ns}	0,001 ^{ns}	0,000000 ^{ns}
CV	19,46	9,65	17,23	12,99	17,55

**Significativo a 1%; *Significativo a 5%; ^{ns} Não significativo pelo teste F ($p \leq 0,05$).

As variáveis de vigor (IVG, COMP e MS) apresentaram comportamento diferente em relação ao período de armazenamento.

Verifica-se na tabela 4 a redução do IVG, COMP e MS, aos 90 dias de armazenamento, no entanto para as últimas variáveis (COMP e MS) não houve diferença entre 60 e 90 dias de armazenamento. A partir destes resultados, observa-se que quanto maior o tempo de armazenamento há a redução do vigor.

Tabela 4 – Índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (COMP) e massa seca de plântula (MS) de sementes bromélias (*D. beateae*) armazenadas em diferentes períodos (30, 60 e 90 dias), temperaturas (ambiente e controlada) e embalagens (polietileno, polipropileno e papel Kraft). Londrina – PR, 2021.

Período (P)	IVG	COMP (cm)	MS (mg)
30 dias	20,41 A*	0,92 A	0,009 A
60 dias	19,94 A	0,90 AB	0,008 AB
90 dias	17,60 B	0,84 B	0,007 B

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

Sementes armazenadas em embalagem de polipropileno mantiveram o vigor (maiores valor de PCG) quando armazenadas por 60 dias em temperatura controlada e por 90 dias em ambas temperaturas testadas se comparadas com as outras embalagens (Tabela 5).

Sementes mantidas em temperatura ambiente e em embalagens de polietileno e polipropileno tiveram maiores valores de PCG em comparação as sementes armazenadas em papel Kraft por 30 dias (Tabela 5).

Para todas as temperaturas e embalagens testadas, o período de 90 dias obteve maiores médias para a variável PCG em comparação as sementes armazenadas nas mesmas condições em períodos de 30 e 60 dias (Tabela 5).

Em relação a temperatura de armazenamento, sementes mantidas sob temperatura ambiente em embalagens de polietileno e

polipropileno nos períodos de 30 e 60 dias apresentaram maiores valores de PCG em comparação a sementes conservadas em temperatura controlada (Tabela 5).

As sementes condicionadas em embalagens de papel Kraft com 30 dias de armazenamento, a temperatura controlada mostrou-se mais eficiente para conservação do vigor. O armazenamento de sementes no período de 90 dias em ambas embalagens testadas não diferiu em relação a temperatura de armazenamento (Tabela 5).

Tabela 5 – Interação entre período (P), temperatura (T) e embalagem (E) para a variável primeira contagem de germinação (PCG) de sementes de bromélias (*D. beateae*) armazenadas em diferentes, períodos (30, 60 e 90 dias), temperaturas (ambiente e controlada) e embalagens (polietileno, polipropileno e papel Kraft). Londrina – PR, 2021.

PxTxE	PCG (%)					
	Temp. Ambiente (25°C)			Temp. Controlada (10°C)		
	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias
Poliet.	6,50 ABb α	15,50 Aa α	17,50 Ba α	0,00 Bc β	10,0 Bb β	20,00 Ba α
Polipro.	8,50 Ab α	12,00 Ab β	25,00 Aa α	0,00 Bc β	16,00 Ab α	28,00 Aa α
Papel	3,00 Bc β	14,00 Ab α	25,00 Aa α	10,00 Ab α	10,50 Bb α	24,50 ABa α

*Letras maiúsculas iguais na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, assim como letras minúsculas iguais na linha em cada período e gregas na linha em cada temperatura.

A tabela 6 apresenta os valores de quadrado médio das variáveis PCG, G, IVG, COMP e MS de sementes de bromélias *D. brevifolia* armazenadas em diferentes, períodos, temperaturas e embalagens. Foi possível observar diferença significativa isolada para o fator período de armazenamento nas características IVG e COMP.

A MS variou de acordo com a embalagem e com a interação do período e a temperatura de armazenamento. Houve interação significativa entre os fatores período x embalagem; e temperatura x embalagem de armazenamento para PCG (Tabela 6).

Tabela 6 – Análise de variância com valores do quadrado médio das variáveis primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GER), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (COMP) e massa seca de plântula (MS) de sementes bromélias (*D. brevifolia*) armazenadas em diferentes, períodos, temperaturas e embalagens. Londrina – PR, 2021.

Quadrado Médio					
Fonte de Variação	PCG	GER	IVG	COMP	MS
Período (P)	313,54*	14,93 ^{ns}	11,09*	0,0350**	0,000002**
Temperatura (T)	1901,38**	3,12 ^{ns}	9,03 ^{ns}	0,0001 ^{ns}	0,000000 ^{ns}
Embalagem (E)	837,50**	10,76 ^{ns}	4,75 ^{ns}	0,0031 ^{ns}	0,000000*
P x T	12,84 ^{ns}	13,54 ^{ns}	5,64 ^{ns}	0,0012 ^{ns}	0,000000*
P x E	301,04*	35,76 ^{ns}	4,07 ^{ns}	0,0014 ^{ns}	0,000000 ^{ns}
T x E	476,38**	1,04 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,0003 ^{ns}	0,000000 ^{ns}
P x T x E	206,59 ^{ns}	8,33 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,0031 ^{ns}	0,000000 ^{ns}
CV	10,74	4,01	5,9	6,79	15,98

**Significativo a 1%; *Significativo a 5%; ^{ns} Não significativo pelo teste F ($p \leq 0,05$).

O COMP apresentou comportamento diferente em relação ao período de armazenamento, sendo que, sementes de *D. brevifolia* armazenadas por um período de 30 dias tiveram plântulas maiores (0,72 cm) em relação as armazenadas por 60 (0,66 cm) e 90 dias (0,66 cm), ou seja, quanto maior o tempo de armazenamento de sementes de *D. brevifolia*, menor o vigor em relação a característica COMP (Tabela 7).

O teste F indicou diferença significativa nas fontes de variação período e embalagem para as variáveis IVG e MS respectivamente, no entanto não foi possível distingui-las por meio do teste de Tukey à 5% de probabilidade de erro (Tabela 7).

Tabela 7 – Índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (COMP) e massa seca de plântula (MS) de sementes bromélias (*D. brevifolia*) armazenadas em diferentes, períodos (30, 60 e 90 dias), temperaturas (ambiente e controlada) e embalagens (polietileno, polipropileno e papel Kraft). Londrina – PR, 2021.

Período (P)	IVG	COMP (cm)
30 dias	31,28 A	0,72 A
60 dias	31,26 A	0,66 B
90 dias	32,47 A	0,66 B
Embalagem (E)	MS (mg)	
Polietileno	0,002 A	
Polipropileno	0,002 A	
Papel	0,002 A	

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

Na interação entre as fontes de variação período e embalagem, sementes condicionadas em embalagens de polietileno e polipropileno por 60 e 90 dias apresentaram maiores médias de PCG, por outro lado, o armazenamento em papel Kraft manteve a PCG até os 90 dias (Tabela 8).

A temperatura e a embalagens de armazenamento alteraram o comportamento da PCG de sementes de *D. brevifolia*; a embalagem de polipropileno manteve a PCG tanto em temperatura ambiente quanto controlada. A embalagem de papel Kraft apresentou as menores médias em relação as outras embalagens testadas em temperatura controlada. Sementes mantidas em temperatura ambiente nas embalagens de polipropileno e papel mantiveram melhor vigor em comparação as condicionadas em temperatura controlada nas mesmas embalagens (Tabela 8).

Para sementes de *D. brevifolia* armazenadas por 90 dias, a temperatura ambiente acumulou maior quantidade de matéria seca em comparação a temperatura controlada. Ainda na mesma interação, períodos de 60 e 90 dias de armazenamento apresentaram maiores médias para MS em ambas temperaturas testas em relação aquelas que permaneceram acondicionadas por 30 dias (Tabela 8).

Tabela 8 – Interações entre período (P) e embalagem (E); temperatura (T) e embalagem (E) para a variável primeira contagem de germinação (PCG), e interação entre período (P) e temperatura (T) para variável massa seca de plântula (MS) de sementes de bromélias (*D. brevifolia*) armazenadas em diferentes, períodos (30, 60 e 90 dias), temperaturas (ambiente e controlada) e embalagens (polietileno, polipropileno e papel Kraft). Londrina – PR, 2021.

PCG (%)			
P x E	Polietileno	Polipropileno	Papel
30 dias	80,62 Ba	86,87 Ba	84,37 Aa
60 dias	93,12 Aa	88,75 ABa	76,87 Ab
90 dias	93,75 Aa	99,37 Aa	80,00 Ab
T x E	Polietileno	Polipropileno	Papel
Ambiente (25°C)	90,41 Aa	95,83 Aa	90,41 Aa
Controlada (10°)	87,91 Aa	87,50 Ba	70,41 Bb
MS (mg)			
P x T	30 dias	60 dias	90 dias
Ambiente (25°C)	0,001 Ab	0,002 Aa	0,002 Aa
Controlada (10°C)	0,001 Ab	0,002 Aa	0,002 Ba

*Médias seguidas de letras maiúsculas distintas diferem entre si nas colunas e minúsculas diferem na linha pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.6 DISCUSSÃO

Sementes de bromélias do gênero *Dyckia* pertencem ao grupo das ortodoxas, as quais toleram secagem (até atingirem aproximadamente 5 a 7% de umidade) sem danos ao metabolismo e podem ser armazenadas em baixas temperaturas. Este grupo de sementes, são resistentes as adversidades e em condições adequadas, germinam. A conservação destas sementes é inversamente proporcional à temperatura do ambiente e ao grau de umidade das mesmas. De maneira oposta, temos as sementes recalcitrantes, as quais não toleram secagem e baixas temperaturas, pois estes processos danificam suas estruturas celulares (MARCOS FILHO, 2015).

Conforme Marcos Filho (2015) a conservação de uma semente, pode variar conforme seu genótipo, todavia, as condições de armazenamento

determinam a longevidade do seu potencial fisiológico. Batista *et al.*, (2011) afirmam que o armazenamento das sementes varia de acordo com a espécie, condições ambientais, tipo de embalagem e período de armazenamento. Sendo o processo de deterioração de sementes irreversível, o mesmo pode ter velocidade reduzida com eficientes manejos de armazenamento (BAUDET, 2003).

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, verifica-se que as variáveis de vigor (IVG, COMP e MS) tiveram redução ao longo do período de armazenamento. Porém, valores consideráveis para estas características foram mantidos durante o armazenamento, ou seja, as sementes mantiveram sua viabilidade por 90 dias, o que se torna benéfico para a multiplicação via sementes e garante ao produtor um planejamento da próxima semeadura. Resultados semelhantes foram observados por Pereira *et al.*, (2010), com sementes de bromélia *Nidularium innocentii* Lem. as quais perderam o poder germinativo ao longo do período de armazenamento, embora permanecesse com poder germinativo alto após 90 dias (acima de 80%).

Em estudo com armazenamento de sementes de *Matelea marítima* Jack., Cuzzol; Lucas (1998), relatam que ao final de 90 dias de armazenamento apresentaram 86% de germinação. Estes autores associam a alta taxa de germinação durante o armazenamento com as condições ambientais em que as sementes se encontravam, tendo em vista que as adversidades do ambiente possibilitam tolerância e adaptação ao clima.

A deterioração das sementes também está associada às características das embalagens que as contêm, resultando de maiores ou menores trocas de vapor de água entre as sementes e a atmosfera e das condições do ambiente em que estão armazenadas (MARCOS FILHO, 2015). Desta forma, as embalagens utilizadas durante o processo de armazenamento devem auxiliar na diminuição da velocidade do processo de deterioração, manter o teor de água inicial das sementes, com propósito de diminuir a respiração (TONIN; PEREZ, 2006).

Diferenças significativas também foram observadas entre as temperaturas de armazenamento. As sementes armazenadas nas embalagens de polietileno e polipropileno sob temperatura ambiente apresentaram maior vigor, por outro lado, as acondicionadas em embalagens de papel Kraft tiveram

maior IVG quando em temperatura controlada. Pelo fato das embalagens de polietileno e polipropileno permitem menores trocas de temperatura e umidade que as embalagens de papel (MATOS *et al.*, 2008).

Baixas temperaturas de armazenamento facilitam a disponibilização das reservas para o processo de respiração celular e conservam melhor os componentes celulares das sementes (HELLMANN *et al.*, 2006). Em estudo de armazenamento de sementes de Pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Barbedo *et al.*, (2002) verificam que sementes mantidas sob baixas temperaturas reduzem o metabolismo, o que contribui para manutenção de seu potencial fisiológico por maior período. Quando armazenadas sob condições normais de ambiente ($22\pm 7^{\circ}\text{C}$) as sementes podem perder viabilidade em até três meses, já sob baixa temperatura ($7\pm 1^{\circ}\text{C}$) foi possível manter a viabilidade por até 18 meses, com germinação superior a 80%.

Da mesma forma, Calil *et al.*, (2007), afirmam que o armazenamento de sementes em câmara fria (5°C e 80% de umidade relativa), foi benéfico para a manutenção da viabilidade de sementes de *Calliandra foliosa* Benth durante 48 meses de armazenamento.

Para ambas espécies estudadas, pode-se observar que a germinação das sementes não apresentou diferenças significativas para todos os períodos de armazenamentos, embalagens utilizadas e temperaturas testadas. Resultados semelhantes foram encontrados por Nunes *et al.*, (2008) em estudo com espécie ornamental, sendo que sementes de *Syngonanthus elegans* Bong., armazenadas em duas temperaturas (5°C e 20°C) e quatro períodos de armazenamento (0, 4, 8 e 12 meses), não apresentaram diferenças na porcentagem de germinação.

Segundo os mesmos autores, o fato de não haver diferença, dá-se possivelmente a ocorrência das sementes estarem maduras no momento da colheita; sendo assim, há maior disponibilidade de reservas que serão utilizadas para geração de energia quando iniciar o processo de germinação. Estas reservas estão diretamente ligadas ao potencial de armazenamento e o vigor das sementes (HELLMANN *et al.*, 2006).

Houve redução na PCG de sementes de *D. brevifolia* até os 30 dias de armazenamento, posteriormente ocorreu um pequeno aumento até o final do armazenamento. Esta redução apenas no período inicial do

armazenamento pode ser dada a algum tipo de mecanismo de adaptação a esta nova condição de armazenamento, enquanto o aumento durante o armazenamento pode ser atribuído à superação do estado de dormência das sementes (CATUNDA *et al.*, 2003).

O vigor determinado pela PCG das sementes de *D. brevifolia* apresentou redução quando armazenadas em sacos de papel Kraft e polipropileno em temperatura controlada. Segundo Cisneiros *et al.* (2003), o armazenamento em temperatura ambiente, proporciona deterioração das sementes de forma mais lenta e gradual, não ocasionando quedas bruscas.

Desta forma, são necessárias padronizações e o estabelecimento de métodos de armazenamento para sementes de espécies ornamentais como bromélias do gênero *Dyckia*, havendo necessidade de mais estudos, tendo em vista que é possível manter a viabilidade das sementes ao longo do armazenamento.

4.7 CONCLUSÕES

O armazenamento de sementes de *D. beateae* por um período de até 30 dias mostrou-se eficaz quanto a manutenção de seu vigor.

Embalagens de polietileno e polipropileno mantém o vigor da variável primeira contagem de germinação de sementes de *D. beateae* e *D. brevifolia* ao longo do período de armazenamento.

Para as condições de armazenamento testadas, ambas temperaturas mostraram-se eficientes na manutenção da viabilidade das sementes de *D. beateae*.

Sementes de *D. brevifolia* apresentam maior comprimento de plântula quando condicionadas por um período de até 30 dias. Períodos de 60 e 90 dias de armazenamento em ambas temperaturas testadas proporcionam maior massa seca de plântulas de *D. brevifolia*.

5 ARTIGO C: Criopreservação na conservação de sementes em nitrogênio líquido de *Dyckia* (Bromeliaceae) nativas do Brasil em risco de extinção.

5.1 RESUMO

As bromélias apresentam grande variabilidade de forma e habitats e desempenham importante papel para evitar ou diminuir a erosão nas margens fluviais. Conhecimento sobre armazenamento de sementes utilizando a técnica da criopreservação, visa conservar o material biológico com todas as suas características originais em temperaturas extremamente baixas (-196°C) em nitrogênio líquido são escassos. Neste sentido, objetivou-se avaliar o comportamento fisiológico de sementes de bromélias brasileiras do gênero *Dyckia* em risco de extinção armazenadas em nitrogênio líquido com diferentes soluções crioprotetoras. Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 6x7 sendo seis espécies do gênero *Dyckia* (*D. excelsa*; *D. beateae*; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya*; *D. brevifolia*); e seis tratamentos com crioprotetores mais um controle: T1 - controle; T2 – sacarose 0,4M; T3 - glicerol 2M; T4 – PVS1 (19% de glicerol, 13% de etilenoglicol, 6% de dimetil sulfóxido, 0,5M de sorbitol); T5 – PVS2 (30% de glicerol, 15% de etilenoglicol, 15% de dimetil sulfóxido e 0,4M de sacarose); T6 – PVS3 (50% de glicerol + 50% de sacarose); T7 – PVS2 com 1% de floroglucinol. Realizou-se testes para avaliação do potencial fisiológicos das sementes, os quais foram definidos como: teste de germinação, índice de velocidade de germinação e testes de comprimento e massa seca de plântulas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Sementes de *D. beateae* e *D. brevifolia* apresentam maior porcentagem de germinação e maior teor de água inicial. A criopreservação sem utilização de crioprotetores nas sementes de *D. excelsa*; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya* e *D. brevifolia*, não altera vigor. Os tratamentos com sacarose, PVS1 e PVS2, visando à conservação por tempo prolongado, são alternativas viáveis e promissoras na manutenção do vigor de sementes de *D. beateae*.

Palavras-chave: Armazenamento. Bromélia. Germinação. Potencial Fisiológico. Vigor.

5.2 ABSTRACT

Bromeliads have great variability in shape and habitats and play an important role in preventing or decreasing erosion on river banks. Knowledge about seed storage using the cryopreservation technique, aims to conserve biological material with all its original characteristics at extremely low temperatures (-196°C) in liquid nitrogen are scarce. In this sense, the objective was to evaluate the physiological behavior of Brazilian bromeliad seeds of the genus *Dyckia* at risk of extinction stored in liquid nitrogen with different cryoprotective solutions. A completely randomized design in a 6x7 factorial scheme was adopted, with six

species of the genus *Dyckia* (*D. excelsa*; *D. beatae*; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya*; *D. brevifolia*); and six treatments with cryoprotectants plus a control: T1 - control; T2 - 0.4M sucrose; T3 - 2M glycerol; T4 - PVS1 (19% glycerol, 13% ethylene glycol, 6% dimethyl sulfoxide, 0.5M sorbitol); T5 - PVS2 (30% glycerol, 15% ethylene glycol, 15% dimethyl sulfoxide and 0.4 M sucrose); T6 - PVS3 (50% glycerol + 50% sucrose); T7 - PVS2 with 1% floroglucinol. Tests were carried out to evaluate the physiological potential of the seeds, which were defined as: germination test, germination speed index and seedling length and dry mass tests. The data were subjected to analysis of variance and the means compared by the Tukey test at 5% probability. *D. beatae* and *D. brevifolia* seeds have higher germination percentage and higher initial water content. Cryopreservation without using cryoprotectants in *D. excelsa* seeds; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya* and *D. brevifolia*, does not alter vigor. Treatments with sucrose, PVS1 and PVS2, aiming at long-term conservation, are viable and promising alternatives in maintaining the vigor of *D. beatae* seeds.

Key words: Storage. Bromeliad. Germination. Physiological Potential. Force.

5.3 INTRODUÇÃO

As bromélias ocorrem praticamente em todos os continentes, apresentam variabilidade de forma e habitats, os quais influenciam no aspecto da planta, que podem variar em tamanho e coloração das folhas, assim como na morfologia das flores (RIZZINI, 1976; BENZING, 2000). Desempenham importante papel para evitar ou diminuir a erosão nas margens fluviais (KLEIN, 1979), contudo tem sofrido pressão antrópica, principalmente devido à implantação de usinas hidrelétricas.

Trata-se de uma família com 52 gêneros, sendo o gênero *Dyckia* considerado o terceiro maior da subfamília (THE PLANT LIST, 2020). Plantas deste gênero ocorrem em todo território nacional e em países vizinhos como Argentina, Bolívia, Paraguai e Uruguai (SMITH, DOWNS, 1974). Suas plantas apresentam folhas coriáceas e suculentas, com frequente desenvolvimento de espinhos marginais e dispostas em rosetas que não formam tanque (BENZING; BURT, 1970).

A propagação vegetativa de bromélias *Dyckias* pode ser sexuada ou assexuada e o sistema de cruzamento por autogamia ou alogamia, no entanto, cada espécie possui um modo particular de reprodução (FREITAS, 2003). Conhecer o mecanismo reprodutivo é de fundamental importância na conservação da espécie (PEREIRA *et al.*, 2008).

Sua principal importância econômica é a ornamentação, sendo utilizada em decorações e projetos paisagísticos (MENDONÇA, 2002). Em função da grande procura por bromélias de valor ornamental, o extrativismo de seus ambientes naturais tem sido fortalecido, causando uma ameaça para algumas espécies (PEREIRA, CUQUEL; PANOBIANCO, 2010). Uma possibilidade para preservação é a produção de mudas via sementes, sendo uma alternativa que preserva a diversidade genética das espécies, com baixo custo e impacto ambiental (TILLICH, 1995).

Conhecimento sobre fisiologia das sementes ainda é escasso, uma vez que não há recomendações para bromélias do gênero *Dyckia* nas Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Há escassez também de informações sobre armazenamento de sementes utilizando a técnica da criopreservação, que visa conservar o material biológico em temperaturas extremamente baixas (-196°C) em nitrogênio líquido com a manutenção das características originais do material após o descongelamento (SANTOS, 2000). Conforme Bajaj (1995) é possível conservar por um longo período diversos materiais vegetais como pólen, sementes, embriões, raízes, bulbos, gemas e meristemas, de forma que por outros métodos não seria possível.

Para proteção destas células contra danos mecânicos durante o congelamento, surgiram os crioprotetores, que são substâncias de classe orgânica variada, agindo na célula durante o período de armazenamento a baixas temperaturas, prevenindo a formação de gelo intra e extracelular e danos causados pela desidratação (HAN *et al.*, 2009).

Estudos com criopreservação de sementes de bromélias são escassos, havendo necessidade do desenvolvimento de pesquisas que envolvam estes testes com espécies desta família. Neste sentido, objetivou-se avaliar o comportamento fisiológico de sementes de bromélias Brasileiras do gênero *Dyckia* em risco de extinção armazenadas em nitrogênio líquido com diferentes soluções crioprotetoras.

5.4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em Londrina PR, com sementes de bromélias de seis espécies do gênero *Dyckia* (*D. excelsa*; *D. beateae*; *D.*

dusenni; *D. delicata*; *D. distachya*; *D. brevifolia*). As sementes foram coletadas de plantas de uma população natural do mesmo município 23°19'42" S, 51°12'11" W e 574 metros de altitude.

A colheita das sementes ocorreu de forma manual, no momento em que as bagas abrissem e então a dispersão ocorresse de forma natural. Após, as mesmas foram armazenadas em uma câmara fria (9°C com variação de 1°C) até o momento da realização dos testes (60 dias). Antes da realização dos testes, foram desinfetadas em solução de hipoclorito de sódio 0,5% de cloro ativo por 20 minutos em câmara de fluxo laminar e em seguida lavadas três vezes com água destilada.

Para caracterização do lote, determinou-se o teor de água das sementes; sendo destinadas 0,2 g de sementes de cada espécie em estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ durante 24 horas, e o resultado final obtido através da pesagem inicial e final das sementes, obtendo da diferença o teor de água (BRASIL, 2009).

Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, em fatorial 6x7, sendo seis espécies do gênero *Dyckia* (*D. excelsa*; *D. beateae*; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya*; *D. brevifolia*) seis tratamentos com crioprotetores mais um tratamento controle (T1 - controle; T2 – sacarose 0,4M; T3 - glicerol 2M; T4 – PVS1 (19% de glicerol, 13% de etilenoglicol, 6% de dimetil sulfóxido, 0,5M de sorbitol); T5 – PVS2 (30% de glicerol, 15% de etilenoglicol, 15% de dimetil sulfóxido e 0,4M de sacarose); T6 – PVS3 (50% de glicerol + 50% de sacarose); T7 – PVS2 com 1% de floroglucinol).

Para cada tratamento, pesou-se 50 mg de sementes, e colocadas em criotubos de plástico contendo 2mL de cada crioprotetor, onde permaneceram em contato com as soluções por 20 minutos, sendo que para as soluções de sacarose ficaram em temperatura ambiente (25°C) e para as soluções vitrificantes PVS1, PVS2, PVS3 e PVS2 + 1% de floroglucinol à 0°C, para posteriormente imersão em nitrogênio líquido (NL), a -196°C.

Ao final do 15º dia de congelamento as sementes foram submetidas ao descongelamento rápido em banho maria a 40°C durante 1,5 minutos. A remoção das soluções crioprotetoras foi realizada com auxílio de uma peneira e água destilada.

Em seguida foram realizados os testes para avaliação do potencial fisiológicos das sementes: teste de germinação, índice de velocidade de germinação e testes de comprimento e massa seca de plântulas.

No teste de germinação (GER), 4 repetições de 50 sementes foram semeadas sobre papel mata borrão (10,5 x 10,5 cm) umedecido com água destilada na quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco no interior de caixas transparentes de plástico (gerbox) (11,5 x 11,5 x 3,5 cm). Após serem acondicionadas em sacos plásticos, foram mantidas em câmeras de germinação tipo BOD conforme recomendações das Regras de Análise de Sementes RAS (BRASIL, 2009), para outras espécies de sementes pequenas e avaliadas conforme as mesmas recomendações, sendo consideradas normais as plântulas que mostraram potencial para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais. Os resultados expressos em porcentagem (BRASIL, 2009).

O índice de velocidade de germinação (IVG) utilizou-se o mesmo teste de germinação, onde, a contagem de sementes germinadas foi realizada diariamente até o final do teste de germinação, considerando aquelas com no mínimo 2 mm de comprimento de radícula seguindo equação descrita por Maguire (1962): $IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$, em que: G1, G2 e Gn = número de plântulas normais, computadas na primeira, segunda e última contagem; N1, N2, Nn = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem (NAKAGAWA, 1999).

Adicionalmente, ao final do teste de germinação foi realizado avaliação do comprimento de plântulas (COMP) por meio da medição de 10 plântulas normais com auxílio de régua graduada em centímetro (cm), com resultados expressos em cm.plântula^{-1} (NAKAGAWA, 1999).

A massa seca de plântula (MS) realizada após a medição do comprimento, as plântulas foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e mantidas em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C até atingirem peso constante, e os resultados expressos em mg.plântula^{-1} (NAKAGAWA, 1999).

Os dados foram analisados pelo Excel quanto à normalidade e homogeneidade e ao atenderem seus pressupostos foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$) e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade utilizando o software Sisvar.

5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 9 apresenta os valores de quadrado médio das variáveis GER, IVG, COMP e MS de sementes de bromélia *D. excelsa*; *D. beatae*; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya* e *D. brevifolia* armazenadas no nitrogênio líquido com soluções crioprotetoras. Verifica-se diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre espécies para a variável GER. Também houve interação entre os dois fatores estudados para as características de IVG, COMP e MS.

Tabela 9 – Análise de variância com valores do quadrado médio das variáveis germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (COMP) e massa seca de plântula (MS) de bromélias (*D. excelsa*; *D. beatae*; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya*; *D. brevifolia*) em função do comportamento fisiológico das sementes armazenadas no nitrogênio líquido com soluções crioprotetoras. Londrina – PR, 2021.

Fonte de Variação	Quadrado Médio			
	GER	IVG	COMP	MS
Tratamento (T)	89,25 ^{ns}	30,29**	3,07**	5,60**
Espécie (E)	5665,79**	706,51**	29,03**	132,04**
T X E	82,44 ^{ns}	8,66*	1,98**	4,68**
CV	13,41	19,27	9	12,6

**Significativo a 1%; *Significativo a 5%; ^{ns} Não significativo pelo teste F ($p \leq 0,05$).

Fonte: próprio autor.

Sementes de *D. excelsa*; *D. beatae*; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya* e *D. brevifolia* apresentaram, respectivamente, 6,8; 8,2; 6; 7,6; 8 e 8,7% de teor de água. O teor inicial de água é um dos principais fatores para criopreservação, ele também garante a sobrevivência das sementes após serem retiradas do nitrogênio líquido (STEGANI *et al.*, 2017). Conforme Silva *et al.* (2011) o ideal é o teor inicial de água abaixo de 10% antes do congelamento, valor atingido no presente estudo.

A porcentagem ideal de água para o processo de criopreservação difere entre as espécies. Pereira *et al.* (2010) em estudo com a bromélia *Pitcairnia albiflos* Herb., conservaram a viabilidade das sementes criopreservadas por um ano com 5-7% de teor de água, porém, observaram que a redução do teor para 3% prejudicou a longevidade das mesmas.

Para a técnica de criopreservação, pode-se utilizar diferentes partes da planta (sementes, meristemas, suspensões celulares, embriões), porém, as sementes possuem vantagens perante aos outros materiais em relação à sobrevivência e regeneração quando criopreservadas, uma vez que o tamanho reduzido favorece a desidratação, sendo assim, o congelamento ocorre de forma mais rápida e uniforme, além de ser material jovem, que apresenta células pequenas e citoplasma denso com poucos vacúolos, o que significa menos água livre e disponível para o congelamento (CARVALHO; VIDAL, 2003).

A tabela 10 apresenta a porcentagem de germinação das sementes após a criopreservação. Os maiores valores para esta variável foram observados em sementes de *D. beatae* (97%) e *D. brevifolia* (96%), e a menor porcentagem de germinação para a espécie *D. dusenni* (61%). Possivelmente estes resultados estejam ligados ao teor de água inicial das sementes, sendo este um fator determinante para viabilidade das mesmas. As espécies que apresentaram maior poder germinativo possuíam maior teor de água inicial (*D. beatae*, 8,2% e *D. brevifolia*, 8,7%), e a espécie com menor valor de germinação, apresentou teor inicial de água inferior (*D. dusenni*, 6%) as demais.

Tabela 10 - Efeito isolado da espécie sobre a variável germinação de plântulas de bromélias (*D. excelsa*; *D. beatae*; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya*; *D. brevifolia*), e teor de água inicial. Londrina-PR, 2021.

Espécie	Germinação (%)	Teor de água inicial (%)
<i>Excelsa</i>	70,89 C	6,8
<i>Beatae</i>	96,57 A	8,2
<i>Dusenni</i>	60,85 D	6,0
<i>Delicata</i>	81,57 B	7,6
<i>Distachya</i>	87,00 B	8,0
<i>Brevifolia</i>	96,28 A	7,8

Médias seguidas na mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

Para as variáveis de vigor IVG, COMP e MS, nas espécies *D. excelsa*; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya* e *D. brevifolia*, nenhum dos crioprotetores utilizados apresentou melhor ou pior resposta, logo, a criopreservação destas espécies pode ser feita sem utilização de crioprotetores

(tratamento controle T1), mantendo assim a viabilidade das sementes (Tabela 11).

A causa dessas sementes manterem seu vigor após congelamento em nitrogênio líquido (-196°C) é explicado por Stanwood e Ross (1979), conforme autores, sementes ortodoxas, como são classificadas as sementes em estudo, toleram dessecação e podem chegar a um baixo grau de umidade (5- 7%) sem que haja prejuízos ou formação de cristais de gelo. Com isso, o baixo teor de água livre nas sementes foi essencial para impedir o rompimento do sistema de endomembranas e causar perda da semipermeabilidade e da compartimentalização celular (KAVIANI *et al.*, 2009).

Walters *et al.* (2001), ressaltam que as sementes, mais especificamente as ortodoxas, apresentam um mecanismo capaz de manter os sistemas de membranas das células, as estruturas das macromoléculas e as substâncias de reserva em condições de restabelecer suas funções fisiológicas após um período de congelamento e desidratação.

Estes resultados corroboram com Tarré *et al.* (2007), em estudo com sementes de *Encholirium heloisae*, *E. pedicellatum*, *E. magalhaesii*, *E.reflexum*, *E. subsecundum*, *E. scrutor*, *Dyckia sordida* e *D. ursina*, não observaram efeito negativo na porcentagem de germinação quando as sementes foram imersas em nitrogênio líquido sem o uso de crioprotetores. Alba *et al.* (2014), ao estudarem criopreservação de sementes de bromélias endêmicas da Mata Atlântica (*Alcantarea imperialis*, *Nidularium ferdinando-coburgii*, *Pitcairnia albiflos*, *Pitcairnia encholiriodes*, *Pitcairnia flammea*, *Vriesea cacuminis*, *Vriesea friburgensis* e *Wittrockia gigantea*), mantiveram a viabilidade das sementes com baixo teor de água (5- 7%) durante um ano de armazenamento no nitrogênio líquido sem a utilização de substâncias crioprotetoras.

Tabela 11 – Interação entre os fatores espécie (E) (*D. excelsa*; *D. beateae*; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya*; *D. brevifolia*) e soluções crioprotetoras (T) (T1 - controle; T2 – sacarose 0,4M; T3 - glicerol 2M; T4 – PVS1 (19% de glicerol, 13% de etilenoglicol, 6% de dimetil sulfóxido, 0,5M de sorbitol); T5 – PVS2 (30% de glicerol, 15% de etilenoglicol, 15% de dimetil sulfóxido e 0,4M de sacarose); T6 – PVS3 (50% de glicerol + 50% de sacarose); T7 – PVS2 com 1% de floroglucinol) para as variáveis índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (COMP) e massa seca de plantula (MS). Londrina - PR, 2021.

T X E	<i>D. excelsa</i>	<i>D. beateae</i>	<i>D. dusenni</i>	<i>D. delicata</i>	<i>D. distachya</i>	<i>D. brevifolia</i>
IVG						
T1	4,7 Ac	6,92 Cbc	9,37 Ab	6,10 Bbc	18,1 Aa	10,3 Aa
T2	5,05 Ac	11,97 ABb	8,7 Abc	10,10 ABb	18,9 Aa	13,2 Ab
T3	4,55 Ad	9,33 BCbc	8,5 Acd	8,35 ABcd	20,25 Aa	13,92 Ab
T4	4,78 Ad	13,61 ABbc	12,82 Abc	10,42 Abc	18,95 Aa	16,72 Aab
T5	5,18 Ad	14,83 Aab	8,3 Acd	11,10 Abc	18,27 Aa	17,55 Aa
T6	5,88 Ad	10,80 ABCbc	9,7 Acd	10,92 Abc	21,8 Aa	15,05 Ab
T7	6,48 Ad	10,36 ABCcd	11,5 Abc	10,30 Abcd	21,5 Aa	15,97 Ab
	<i>D. excelsa</i>	<i>D. beateae</i>	<i>D. dusenni</i>	<i>D. delicata</i>	<i>D. distachya</i>	<i>D. brevifolia</i>
COMP (cm)						
T1	8,22 ABab	7,97 Cb	6,97 Abc	7,07 Bbc	9,7 Aa	5,87 Ac
T2	7,60 ABc	10,45 ABa	7,67 Ac	8,32 ABbc	9,32 Aab	6,85 Ac
T3	8,35 ABabc	9,02 BCab	7,9 Abc	8,02 ABbc	9,75 Aa	7,00 Ac
T4	8,70 Abc	11,10 Aa	8,25 Abc	8,50 ABbc	9,24 Ab	7,22 Ac
T5	6,81 Bcd	11,07 Aa	8,25 Abc	8,37 ABb	9,45 Ab	6,67 Ac
T6	8,96 Aa	9,07 BCa	7,17 Abc	8,57 ABab	8,57 Aab	6,87 Ac
T7	8,50 Aab	8,30 Cab	8,3 Aab	9,07 Aa	8,97 Aa	6,97 Ab
	<i>D. excelsa</i>	<i>D. beateae</i>	<i>D. dusenni</i>	<i>D. delicata</i>	<i>D. distachya</i>	<i>D. brevifolia</i>
MS (mg)						
T1	6,47 Aab	7,65 Ca	3,42 Ac	5,32 Ab	6,57 Aab	2,45 Cc
T2	7,25 Ab	10,27 Aa	3,3 Ac	6,42 Ab	6,47 Ab	4,22 Bc
T3	7,1 Aabc	8,35 Ca	3,5 Ad	5,65 Ac	6,52 Abc	7,77 Aab
T4	6,95 Ab	10,20 ABa	3,5 Ad	5,45 Ac	5,97 ABbc	2,67 Cd
T5	6,12 Ab	11,35 Aa	3,5 Acd	6,07 Ab	4,87 BCbc	2,62 Cd
T6	7,27 Aab	8,67 Bca	3,47 Acd	6,27 Ab	4,62 BCc	2,5 Cd
T7	7,3 Aa	8,02 Ca	3,75 Ac	5,75 Ab	4,4 Cbc	2,17 Cd

*Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: próprio autor.

Para sementes da espécie *D. beatae*, a utilização dos crioprotetores T2 (sacarose 0,4M); T4 (PVS1 (19% de glicerol, 13% de etilenoglicol, 6% de dimetil sulfóxido, 0,5M de sorbitol)) e T5 (PVS2 (30% de glicerol, 15% de etilenoglicol, 15% de dimetil sulfóxido e 0,4M de sacarose)) mantiveram o vigor (IVG, COMP e MS) das sementes após criopreservação. O tratamento controle (T1) sem utilização de crioprotetor afetou negativamente estas variáveis.

Para esta espécie *D. beatae*, a utilização de crioprotetores foi eficaz para manutenção da viabilidade das sementes, pois estas substâncias ligadas ao hidrogênio e a molécula de água, reduziram a formação de cristais de gelo, além de promoverem o fortalecimento da estrutura quaternária das proteínas de membrana, preservando-as da desidratação (SAKAI, 1995). Alguns tecidos vegetais, não são capazes de resistir em baixas temperaturas (-196°C) sem a proteção de substâncias específicas (VEIGA *et al.*, 2006).

Vale ressaltar que os crioprotetores, reduzem os danos celulares ocasionados durante o processo de criopreservação, na literatura estas soluções são bem sucedidas, porém, vale ressaltar que algumas soluções de vitrificação podem manifestar efeito tóxico para as plantas, o que requer cautela na utilização destas substâncias (VENDRAME; FARIA, 2011). As diversas substâncias presentes nestas soluções de crioprotetores, possuem diferentes mecanismos, o etilenoglicol, por exemplo, evita a cristalização da água e atua na remoção dos radicais livres liberados durante o processo de descongelamento. (SUSUKI *et al.*, 2018). A sacarose e o sorbitol são açúcares que quando absorvidos pelas células, o ponto de congelamento é abaixado e a quantidade de água livre nos tecidos decresce, evitando a formação de cristais de gelo (PANIS *et al.*, 1996).

Como é possível observar ao longo do trabalho, as espécies de bromélias *D. excelsa*; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya* e *D. brevifolia*, apresentaram resistência ao congelamento em nitrogênio líquido sem a utilização de crioprotetores, entretanto, a espécie *D. beatae*, mostrou resultados adversos. Dessa forma, verifica-se que a técnica de criopreservação depende da interação de diversos aspectos, como por exemplo, a composição

da solução de criopreservação, o volume e também a taxa de resfriamento de cada espécie (SUZUKI *et al.*, 2018).

5.6 CONCLUSÕES

Sementes de *D. beateae* e *D. brevifolia* apresentam maior porcentagem de germinação e maior teor de água inicial se comparadas as sementes de *D. excelsa*; *D. dusenni*; *D. delicata* e *D. distachya*.

O uso de crioprotetores não altera o vigor das sementes de *D. excelsa*; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya* e *D. brevifolia*, dessa forma, as mesmas podem ser criopreservadas em nitrogênio líquido (-196°C) sem soluções crioprotetoras.

Os tratamentos com os crioprotetores, sacarose, PVS1 e PVS2, são alternativas promissoras para conservação do vigor de sementes de *D. beateae* em nitrogênio líquido (-196°C).

6 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Neste trabalho, verificou-se que tanto o armazenamento convencional quanto o armazenamento por criopreservação por um período de 90 dias mantiveram a qualidade das sementes de *D. beateae* e *D. brevifolia*, com isso a técnica de criopreservação para este período de armazenamento, torna-se inviável para manutenção destas espécies, tendo em vista que sua utilização requer maior custo que o armazenamento convencional, entretanto, este estudo contribuiu para o conhecimento aprofundado da técnica e pode tornar-se viável, quando o armazenamento for por um período maior.

Para preservação de sementes de *D. excelsa*; *D. dusenni*; *D. delicata*; *D. distachya* e *D. brevifolia*, a criopreservação pode ser realizada sem utilização de crioprotetores, mantendo assim, o vigor e garantido menor custo.

Por se tratar de sementes ortodoxas, pode-se observar que o armazenamento de bromélias *Dyckias*, é uma ferramenta viável para manutenção da viabilidade de suas sementes, com isso, outros estudos relacionados devem ser realizados.

7 REFERÊNCIAS

AGUIAR, F. F. A.; KANASHIRO, S.; BARBEDO, C. J.; SEMACO, M. Influência do tamanho sobre a germinação de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (Pau-Brasil). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 18, n. 2, p. 283-285, 1996.

AGUIAR, R. H.; FANTINATTI, J. B.; GROTH, D.; USBERTI, R. Qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de girassol de diferentes tamanhos. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.1, p.134-139, 2001.

ALMEIDA, S. P. **Cerrado: aproveitamento alimentar**. Embrapa-CPAC, 1998. Planaltina, 188 p.

ALVES, E. U.; BRUNO, R. D. L. A.; OLIVEIRA, A. P. D.; ALVES, A. U.; ALVES, A. U.; PAULA, R. C. D. Influência do tamanho e da procedência de sementes *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. sobre a germinação e vigor. **Revista Árvore**, v. 29, n. 6, p. 877-885, 2005.

ALVES, E. U.; NASCIMENTO, C. D. L. do.; BRUNO, R. L. A.; ALVES, A. U.; JÚNIOR, J. M. B.; CARDOSO, E. A.; GALINDO, E. A.; SILVA, K. B. Germinação e vigor de sementes de *Bauhinia divaricata* L. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 38, n.4, p.960-966, 2008.

APG III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, p. 105-121, 2009.

ARANDA-PERES, A. N.; RODRIGUEZ, A. P. M. Bromeliads. **Floriculture, ornamental and plant biotechnology**, v. 1, p. 644-655, 2006.

ARAUJO NETO, J. C.; AGUIAR, I. B.; FERREIRA, V. M. Efeito da temperatura e da luz na germinação de sementes de *Acacia polyphylla* DC. **Brazilian Journal of Botany**, p. 249-256, 2003.

ARAUJO, A. C.; FISCHER, E. A.; SAZIMA, M. As bromélias na região do Rio Verde. In: MARQUES, O.A.V.; DUEBA, W. (eds.). **Estação da Juréia-Itatins. Ambiente físico, flora e fauna**. Holos, São Paulo, 162-171. 2004.

BAJAJ, Y. P. S. Cryopreservation of plant cell, tissue, and organ culture for the conservation of germplasm and biodiversity. In: BAJAJ, Y. P. S. (Ed.) **Biotechnology in Agriculture and Forestry**. Berlin: Springer, 1995. p. 3-28.

BARBEDO, C. J.; BILIA, D. A. C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. de C. L. Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (paubrasil), espécie da Mata Atlântica. **Revista Brasileira de Botânica**, v.25, n.4, p.431- 439, 2002.

BATISTA, I. M. P.; FIGUEIREDO, A.F.; SILVA, A.M.; SILVA, T.A. Efeito de embalagens, ambientes e períodos de armazenamento na germinação e no vigor das sementes de cedro (*Cedrela odorata*) em Manaus – AM. **FLORESTA**, v. 41, n. 4, p. 809 - 818, 2011.

- BAUDET, L. Armazenamento de Sementes. In: PESKE, S.T.; ROSENTHAL, M.D.; ROTA, G.M. (Ed). **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. Pelotas: Gráfica Universitária-UFPel, p.369-418, 2003.
- BENZING, D. H. **Bromeliaceae: perfil de uma radiação adaptativa**. Cambridge University Press, 2000.
- BENZING, DAVID H.; BURT, KATHLEEN M. Foliar permeability among twenty species of the Bromeliaceae. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, p. 269-279, 1970.
- BERED, F. *et al.* Bromélias. A beleza exótica do Novo Mundo. In: BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. Origem e evolução das plantas cultivadas. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p. 235-252.
- BIRUEL, R.P. **Caracterização e germinação de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart. ex. Tul. var. leiostachya Benth.** 2001. 70f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. **Regras para análise de sementes**. 2009.
- CALIL, A. C.; LEONHARDT, C.; SOUZA, L. S.; SILVA, V. S. Influência do armazenamento em câmara fria sobre a viabilidade de sementes de *Calliandra*
- CANELA, M.B.F.; SAZIMA, M. The pollinization of *Bromelia antiacantha* (Bromeliaceae) in the southeastern Brazil: ornithophilous versus melittophilous features. **Plant Biology**, p. 1-6. 2005.
- CARNEIRO, J. G. A.; AGUIAR, I. B. Armazenamento de sementes. In: AGUIAR, I.B.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. (Coord.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, p. 333-350, 1993.
- CARVALHO, J. M. F.; VIDAL, M. S. Crioconservação no melhoramento vegetal. **Embrapa Algodão. Documentos**, 2003.
- CARVALHO, N. D.; NAKAGAWA, J. Seeds: science, technology and production. **FUNEP, Jaboticabal. Brazilian**, v. 590, 2012.
- CASTRO, J. R.; DUTRA, A. S. Influência do tamanho das sementes de *Leucaena (Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit) cv. cunningham na germinação e no vigor. **Rev. Bras. Sementes**, v. 19, n. 1, p. 88-90, 1997.
- CATUNDA, P. H. A.; VIEIRA, H. D.; SILVA, R. F.; POSSE, S. C. P. Influência do teor de água, da embalagem e das condições de armazenamento na qualidade de sementes de maracujá amarelo. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 25, n. 1, p.65-71, 2003.
- CISNEIROS, R. A.; MATOS, V. P.; LEMOS, M. A.; REIS, O. V.; QUEIROZ, R. M. Qualidade fisiológica de sementes de araçazeiro durante o armazenamento.

Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande, v.7, n.3, p.513-518, 2003.

CUZZOL, G. R. F.; LUCAS, NEIDE, M. C. Germinação de sementes de *Matelea marítima* (Jack.) Woods (Asclepiadaceae). Disponível em: <http://www.bibvirt.futuro.usp.br/content/download/14860/103981/file/01.pdf>. Acesso em: 18/09/2020.

DAQUINTA, M.; ALMEIDA, A. P.; GUERRA, M. P. In vitro morphogenesis of immature flower and buds of flower stalk in *Dyckia distachya*. **Journal of the bromeliad society**, v. 49, p. 72-76, 1998.

DUARTE, E. F. **Caracterização, qualidade fisiológica de sementes e crescimento inicial de *Dyckia goehringii* Gross & Rauh, bromélia nativa do Cerrado**. 2007. 200 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) –Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2007.

DUARTE, E. F.; CARNEIRO, I. F.; DA SILVA, N. F.; GUIMARÃES, N. N. R. Características físicas e germinação de sementes de *Dyckia goehringii* Gross & Rauh (Bromeliaceae) sob diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics)**, p. 10.5216/pat. v40i4. 6037-10.5216/pat. v40i4. 6037, 2010.

ENGELMANN, F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. **In Vitro Cellular and Development Biology -Plant**, [S.l.], v.47, p. 5-16, 2011.

FENNER, M.; THOMPSON, K. **A ecologia das sementes**. Cambridge University Press, 2005.

FERRARI, E.A.P.; COLOMBO, R.C.; FARIA, R.T.; TAKANE, R.J. Cryopreservation of seeds of *Encholirium spectabile* Martius ex Shultes f. by the vitrification method. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v.47, n.1, p. 172-177, 2016.

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

FERREIRA, M. G. R.; TORRES, S. B. Influência do tamanho das sementes na germinação e no vigor de plântulas de *Acacia senegal* (L.) de Willd. **Revista Brasileira de Sementes**, v.22, n.1, p.271-275, 2000.

FLEIG, F. D.; RIGO, S. M. Influência do tamanho dos frutos do palmitreiro *Euterpe edulis* Mart. Na germinação das sementes e crescimento das mudas. **Ciência Florestal**, v.8, n.1, p.35-41, 1998.

foliosa Benth. (Leguminosae-Mimosoideae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 1, p. 774-776, 2007.

FORZZA, R. C.; COSTA, A.; SIQUEIRA FILHO, J. A.; MARTINELLI, G.; MONTEIRO, R. F.; SANTOS-SILVA, F.; SARAIVA, D. P.; PAIXÃO-SOUZA, B. **Bromeliaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do

Rio de Janeiro. 2013. Disponível em:

≤<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB66>> Acesso em: 29 de jun. 2019.

FORZZA, R. C.; COSTA, A.; SIQUEIRA FILHO, J. A.; MARTINELLI, G.; MONTEIRO, R. F.; SANTOS-SILVA, F.; ... VERSIEUX, L. M. Bromeliaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1085-1113, 2015.

FRAZÃO, D. A. C.; FIGUEIRÊDO, F. J. C.; CORRÊA, M. P. F.; DE OLIVEIRA, R. P.; POPINIGIS, F. Tamanho da semente de guaraná e sua influência na emergência e no vigor. **Embrapa Amazônia Oriental-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 1981.

FRAZÃO, D. A. C.; FIGURAUEREDO, T. J. C.; CORRÊA, M. P. F.; OLIVEIRA, R. P. de; POPINIGIS, F. Tamanho da semente de guaraná e sua influência na emergência e no vigor. **Revista Brasileira de Sementes**, ABRATES, Brasília., v.5, n. 81-91p., 1983.

FREITAS, Loreta Brandão (Ed.). **Genética & evolução vegetal**. UFRGS, 2003.

GARCIA, D. C.; BARROS, A. C. S. A.; PESKE, S. T.; MENEZES, N. L. de. A secagem de sementes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n. 2, p.603-608, 2004.

GEMAQUE, R. C. R.; DAVIDE, A. C.; FARIA, J. M. R. Indicadores de maturidade fisiológica de sementes de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.). **Cerne**, v. 8, n. 2, p. 84-91, 2002.

GERMANO, I. **Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de cultivares de trigo**. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Agronomia), Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2013.

GIVNISH, T. J.; MILLAM, K. C.; BERRY, P. E.; SYTSMA, K. J. Filogenia, radiação adaptativa e biogeografia histórica de Bromeliaceae inferidas a partir de dados da sequência ndhF. **Aliso: Um Jornal de Botânica Sistemática e Evolutiva**, v. 23, n. 1, p. 3-26, 2007.

GIVNISH, T.J.; BARFUSS, M.H.J.; VAN, E.E.B.; RIINA, R.; SCHULTE, K.; HORRES, R.; GONSISKA, P.A.; JABAILY, R.S.; CRAYN, D.M.; SMITH, A.C.; WINTER, K.; BROWN, G.K.; EVANS, T.M.; HOLST, B.K.; LUTHER, H.; TILL, W.; ZIZKA, G.; BERRY, P. E.; SYTSMA, K.J. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in bromeliaceae: insights from an eight-locus plastid phylogeny. **American Journal of Botany**, v. 98, n. 5, p. 1-24, 2011. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000059>

GOUDA, E. J.; BUTCHER, D.; GOUDA, C. S. Encyclopaedia of Bromeliads, Version 3. [Http://encyclopedia.florapix.nl/](http://encyclopedia.florapix.nl/). University Botanic Gardens, Utrecht. Acessado em: 27 de junho de 2019.

HAIG, D.; WESTOBY, M. Seed size, pollination costs and angiosperm success. **Evolutionary Ecology**, v. 5, n. 3, p. 231-247, 1991.

HAN X.; MAB L.; BENSON J.; BROWN A.; CRITSER J. K. Measurement of the apparent diffusivity of ethylene glycol in mouse ovaries through rapid MRI and theoretical investigation of cryoprotectant perfusion procedures. **Cryobiology**, [S.l.] v.58, p. 298-302, 2009.

HELLMANN, M.E.; MELLO, J.I.O.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L.; BARBEDO, C.J. Tolerância ao congelamento de sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) influenciada pelo teor de água inicial. *Revista Brasileira de Botânica*, v.29, n.1, 2006.

HENLE, K.; DAVIES, K. F.; KLEYER, M.; MARGULES, C.; SETTELE, J. Predictors of species sensitivity to fragmentation. **Biodiversity and Conservation** 13: 207-251. 2004.

KAVIANI, B.; ABADI, D.; TORKASHVAND, A.; HOOR, S. Cryopreservation of seeds of lily [*Lilium ledebourii* (Baker) Bioss]: Use of sucrose and dehydration. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 16, 2009.

KLEIN, R. M. Reófitas no Estado de Santa Catarina, Brasil. In: **Anais da Sociedade Botânica do Brasil. XXX Congresso Nacional de Botânica, Campo Grande, MS-21 a.** 1979. p. 159-169.

LEME, E. M. C.; SIQUEIRA-FILHO, J. A. Taxonomia das bromélias dos fragmentos de Mata Atlântica de Pernambuco e Alagoas. **Fragmentos de Mata Atlântica do Nordeste, Biodiversidade, Conservação e suas Bromélias. Andrea Jakobsson Estúdio, Rio de Janeiro**, p. 190-381, 2006.

LEME, E. M.; RIBEIRO, O. B. D. C.; MIRANDA, Z. D. J. New species of *Dyckia* (Bromeliaceae) from Brazil. **Phytotaxa**, v. 67, n. 1, p. 9-37, 2012.

LUTHER, H. E. An alphabetical list of Bromeliad Binomials. **Marie Selby Botanical Gardens & Bromeliad Society International**. 14 ed. 2014. 45p.

MAGUIRE, J. D. Velocidade de germinação - ajuda na seleção e avaliação do surgimento e vigor das mudas 1. **Ciência das lavouras**, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2015.

MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J.; BOVI, M. L. A.; Stanguerlim, H. Influência do peso das sementes de palmito-vermelho (*Euterpe espirotosantensis* Fernandes) na porcentagem e na velocidade de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 1, p. 47-53, 2000.

MATOS, V. P.; FERREIRA, E. G. B.; FERREIRA, R. L. C.; SENA, L. H. M.; SALES, A. G. F. A. Efeito do tipo de embalagem e do ambiente de armazenamento sobre a germinação e o vigor das sementes de Apeiba tiburou AUBL. *Revista Árvore*, v.32, n.4, p.617-625, 2008.

MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. The germination of seeds. **The germination of seeds.**, 1963.

MELO, F. D.; AGUIAR NETO, A. D.; SIMABUKURO, E. A.; TABARELLI, M. Recrutamento e estabelecimento de plântulas. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, p. 237-250, 2004.

MELO, P. R. B.; OLIVEIRA, J. A.; PINTO, J. E. P.; CASTRO, E. M.; VIEIRA, A. R.; EVANGELISTA, J. R. E. Germinação de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster* mart.) armazenados em diferentes condições. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 75-82, 2007.

MENDONÇA, P. G. **Estimativa da área foliar de *Tillandsia* spp. (bromeliaceae) e similaridade entre espécies com base em dimensões foliares**. 2002. 86 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

MORAES NETO, S. P.; GONÇALVES, J. L. de M.; TAKAKI, M.; CENCI, S.; GONÇALVES, J.C. Crescimento de mudas de algumas espécies arbóreas que ocorrem na mata atlântica em função do nível de luminosidade. **Revista Árvore**, Viçosa, v.24, n.1, p.35-45, 2000.

MOREIRA, B. A; WANDERLEI, M. G. L e CRUZ-BARROS, M. A. V. **Bromélias: importância ecológica e diversidade. Taxonomia e morfologia – Curso de Capacitação de Monitores**. 2006. São Paulo: Instituto de Botânica, 12 p.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseado no desempenho das plântulas. **Vigor de sementes: conceitos e testículos**. Londrina: ABRATES, v. 1, p. 20-31, 1999.

NEGRELLE, R. R. B.; MITCHELL, D.; ANACLETO, A. Bromeliad ornamental species: conservation issues and challenges related to commercialization. **Acta Scientiarum**, v. 34, n. 1, p. 91-100, 2012.

NERY, M. C.; CARVALHO, M. L. M.; OLIVEIRA, L. M. Determinação do grau de umidade de sementes de ipê-dourado *Tabebuia ochracea* ((Cham.) Standl.) pelos métodos de estufa e forno de microondas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n.6, p. 1299-1305, 2004.

NUNES, S. C. P.; NUNES, U. R.; FONSECA, P. G.; GRAZZIOTTI, P. H.; PEGO, R. G.; MARRA, L. M. Época, local de colheita e armazenamento na qualidade fisiológica da semente de sempre-viva (*Syngonanthus elegans* (Bong.) Ruhland – Eriocaulaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 1, p. 32-39, 2008.

OLIVEIRA, R. R. Importância das bromélias epífitas na ciclagem de nutrientes da Floresta Atlântica. **Acta bot. bras**, v. 18, n. 4, p. 793-799, 2004.

PANIS, B.; TOTTE, N.; NIMMÉN, K. V; WITHERS, L. A.; SWENNEN, R. Cryopreservation of banana (*Musa* spp.) meristem cultures after preculture on sucrose. **Plant Science**, v. 121, n. 1, p. 95-106, 1996.

PEREIRA, A. R.; ANDRADE, A. C. S.; PEREIRA, T. S.; FORZZA, R. C.; RODRIGUES, A. S. Morphological aspects of seed, germination and storage of

Pitcairnia albiflos (Bromeliaceae). **Seed Science and Technology**, v. 38, n. 1, p. 79-87, 2010.

PEREIRA, A. R.; PEREIRA, T. S.; RODRIGUES, A. S.; ANDRADE, A. C. S. D. Morfologia de sementes e do desenvolvimento pós-seminal de espécies de Bromeliaceae. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 4, p. 1150-1162, 2008.

PEREIRA, C.; CUQUEL, F. L.; PANOBIANCO, M. Germinação e armazenamneto de sementes de *Nidularium innocentii* (Lem.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 2, p. 36-41, 2010.

PEREIRA, D. A.; BRITO, A. C.; AMARAL, C. L. F. Biologia floral e mecanismos reprodutivos do Mussambê (*Cleome spinosa* Jacq) com vistas ao melhoramento genético. **Biotemas**, v. 20, n. 4, p. 27-34, 2007.

PETERBAUER, T.; RICHTER, A. Biochemistry and physiology of raffinose family oligosaccharides and galactosyl cyclitols in seeds. **Seed Science Research**, v. 11, n. 3, p. 185-197, 2001.

PINANGÉ, D. B. **Filogenia molecular e estudos populacionais no gênero *Dyckia* Schult. & Schult.f. (Bromeliaceae)**. 2013. 121p. Tese (Doutorado em Biotecnologia/Biologia Celular e Molecular). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

POLLOCK, B. M.; ROOS, E. E. Seed and seedling vigor. **Seed Biology, I. Importance, development and germination**, p. 314-387, 1972.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2. ed. Brasília, 1985.

RAMOS, A.; BIANCHETTI, A. Metodologia para determinação do teor de umidade de sementes de *Araucária angustifolia* (Bert.) Kuntze. **Revista Brasileira de Sementes**. v. 3, p. 9-16, 1990.

REFLORA. **Bromeliaceae in Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB66>>. Acesso em: 17. out. 2020.

REIS, A.; ROGALSKI, J.; VEIRA, N. K.; BERKENBROCK, I. S. Conservação de espécies reófitas de *Dyckia* no Sul do Brasil: *Dyckia disachya*. **Relatório técnico**, v. 2, 2005.

REITZ, R. Bromeliáceas e a Malária-Bromélia Endêmica. In: **Flora Ilustrada Catarinense**. Parte I. Fascículo Bromélia. 1983.

RIZZINI, C. T.; MORS, W. B. **Botânica econômica brasileira**. 1976. EPU/Edusp, São Paulo.

RODRIGUES, A. R.; FORZZA, R. C.; ANDRADE, A. C. Physiological characteristics underpinning successful cryopreservation of endemic and endangered species of Bromeliaceae from the Brazilian Atlantic

Forest. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 176, n. 4, p. 567-578, 2014.

RODRIGUES, I. M. C.; FERREIRA, F. A.; GROSSI, J. A. S.; BARBOSA, J. G.; PAULA, C. C.; REIS, M. R. Ocorrência de plantas daninhas no cultivo de bromélias. **Planta Daninha**, v.25, n.4, p.727-733, 2007.

ROGALSKI, J. M.; REIS, A. Conservação de reófitas: o caso da bromélia *Dyckia brevifolia* Baker, Rio Itajaí-Açu, SC. **Perspectivas sistêmicas para a conservação e restauração ambiental: do pontual ao contexto. Florianópolis: Herbário Barbosa Rodrigues**, p. 335-344, 2009.

ROGALSKI, J. M.; REIS, A.; REIS, M. S.; HMELEJEVSKI, K. V. Biologia reprodutiva da reófito *Dyckia brevifolia* Baker (Bromeliaceae), no Rio Itajaí-Açu, Santa Catarina, Brasil. **Rev Bras Bot**, v. 32, p. 691-702, 2009.

SAKAI, A. Cryopreservation of germplasm of woody plants. In: **Cryopreservation of plant germplasm I**. Springer, Berlin, Heidelberg, 1995. p. 53-69.

SANTOS, I. R. I. Criopreservação: potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. 70-84, 2000.

SARAGUSTY, J.; ARAV, A. Current progress in oocyte and embryo cryopreservation by slow freezing and vitrification. **Reproduction**, [S.l.], v.141, p.1-19, 2011.

SAZIMA, M.; BUZATO, S.; SAZIMA, I. Polinização por beija-flores em *Nidularium* e gêneros relacionados. **Leme EMC Nidularium: Bromélias da Mata Atlântica. Sextante Artes, Rio de Janeiro**, p. 190-195, 2000.

SILVA, A.; KASAI, F.; CASTELLANI, E.; AGUIAR, I.; CARVALHO, N. Influência do tamanho sobre a qualidade das sementes de *Eucalyptus maculate*. Hook. **Revista brasileira de sementes**, v. 16, n. 2, p. 187-90, 1994.

SILVA, I. V., SCATENA, V. L. Morfologia de sementes e de estádios iniciais de plântulas de espécies de Bromeliaceae da Amazônia. **Rodriguésia**, v. 62, n. 2, p. 263-272, 2011.

SILVA, M. T. B. Relação da água e dos detritos com a riqueza de macroinvertebrados em bromélias. **Inpa**. 2009. 9p.

SILVA, R. D. C.; CAMILLO, J.; LUIS, Z. G.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Potencial germinativo e morfoanatomia foliar de plântulas de pinhão-manso originadas de germoplasma criopreservado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 8, p. 836-845, 2011.

SIMÃO, S. **Tratado de Fruticultura**. Piracicaba: FEALQ. p.760, 1998.

SIQUEIRA-FILHO, J. A.; MACHADO, I. C. S. Floração e polinização das bromélias da Mata Atlântica nordestina. In: SIQUEIRA-FILHO, J. A. e LEME, E.

M. C. **Fragmentos de Mata Atlântica do Nordeste; biodiversidade, conservação e suas bromélias**. Andrea Jakobsson Estúdio. Rio de Janeiro. pp. 159-189. 2006.

SMITH, LYMAN B.; DOWNS, R. J. **Bromelioideae (Bromeliaceae)**. 1979.

SMITH, LYMAN B.; DOWNS, R. J. Flora neotrópica. **Pitcarnioideae (Bromeliaceae)**, v. 14, n. 1, p. 1-609, 1974.

SMITH, LYMAN B.; DOWNS, R. J. **Tillandsioideae (Bromeliaceae)**. 1977.

STANWOOD, P. C.; BASS, L. N. Seed germplasm preservation using liquid nitrogen. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.9, p.423-437, 1981.

STANWOOD, P. C.; ROOS, E. E. Seed storage of several horticultural species in liquid nitrogen (-196 degrees Celsius). **HortScience**, v. 5, p. 628-630, 1979.

STANWOOD, P.C. Cryopreservation of seed germplasm for genetic conservation. In: Cryopreservation of plant cell and organs. **Boca Raton, Flórida: CRC**, 1985. p.199-236.

STEENIS, C. G. G. J. **Rheophytes of the world: an account of the flood-resistant flowering plants and ferns and the theory of autonomous evolution**. Kluwer Academic Pub, 1981.

STEGANI, V.; ALVES, G. A. C.; BERTONCELLI, D. J.; FARIA, R. T. Criopreservação de sementes de rainha do abismo (*Sinningia leucotricha*). **Revista brasileira de horticultura ornamental**, v. 23, n. 1, p. 15-21, 2017.

STREHL, T.; BEHEREGARAY, R. C. P. Morfologia de sementes do gênero *Dyckia*, subfamília Pitcairnioideae (Bromeliaceae). **Pesquisas Botânicas**, v. 57, p. 103-120, 2006.

STRINGHETA, Â. C. O.; DA SILVA, D. J. H.; CARDOSO, A. A.; FONTES, L. E. F.; BARBOSA, J. G. Germinação de sementes e sobrevivência das plântulas de *Tillandsia geminiflora* Brongn, em diferentes substratos. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 27, n. 1, p. 165-170, 2005.

SUZUKI, A. B. P.; BERTONCELLI, D. J.; ALVES, G. A. C.; FARIA, R. T. Criopreservação de sementes da orquídea brasileira em extinção *Cattleya granulosa* Lindl. **Iheringia, Série Botânica**, v. 73, n. 2, p. 146-150, 2018.

TARRÉ, E.; PIRES, B. B. M.; GUIMARÃES, A.P.M.; CARNEIRO, L. A.; FORZZA, R. C.; MANSUR, E. Germinability after desiccation, storage and cryopreservation of seeds from endemic *Encholirium* Mart. ex Schult. & Schult. f. and *Dyckia* Schult. & Schult.f. species (Bromeliaceae). **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 21, n. 4, p. 777- 783, 2007.

THE PLANT LIST. 2020. Versão 1.1. Publicado na Internet. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/>>. Acesso em 27 jun 2020.

TILLICH, H. J. Seedlings and systematics in monocotyledons. In: RUDALL, P. J.; CRIBB, P. J.; CUTLER, D. F.; HUMPHRIES, C. J. (Eds.). *Monocotyledons: systematics and evolution*. Kew: **Royal Botanic Garden**, p. 303-352, 1995.

TONIN, G. A.; PEREZ, S. C. J. G de A. Qualidade fisiológica de sementes de *Ocotea porosa* (NEES ET MARTIUSEX. NEES) após diferentes condições de armazenamento e semeadura. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 2, p. 2633, 2006.

VEIGA, R. F. R.; MELETTI, L. M. M.; BARBOSA, W.; TOMBOLATO, A. F. C. A crioconservação de sementes de recursos genéticos hortícolas no Instituto Agrônômico. **O Agrônômico**, v. 5, p. 19-21, 2006.

VENDRAME, W. A.; FARIA, R. T. Phloroglucinol enhances recovery and survival of cryopreserved *Dendrobium nobile* protocorms. **Scientia Horticulturae**, v. 128, n. 2, p. 131-135, 2011.

VILLELA, F. A.; PERES, W. B. Coleta, beneficiamento e armazenamento. In *Germinação: do básico ao aplicado* (A. G. Ferreira; F. Borghetti, orgs.). **Artmed**, Porto Alegre, p.265-281, 2004.

VOSGUERITCHIAN, S. B.; BUZATO, S. Reprodução sexual de *Dyckia tuberosa* (Vell.) Beer (Bromeliaceae, Pitcairnioideae) e interação planta-animal. **Revista Brasileira de Botânica** 29: 433-442. 2006.

WALTERS, C.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P.; CRANE, J. Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds. **Seed Science Research**, v. 11, n. 2, p. 135, 2001.

WIESBAUER, M. B.; REIS, A. Conservação ex situ e reintrodução de espécies na natureza: O que aprendemos nas experiências com a reófito *Dyckia distachya*. **Perspectivas sistêmicas para a conservação e restauração ambiental: do pontual ao contexto**, p. 355-3661, 2009.

WINKLER, M.; HÜLBER, K.; HIETZ, P. Efeito da posição do dossel na germinação e na sobrevivência de plântulas de bromélias epífitas numa floresta mexicana húmida de altitude. **Anais de Botânica**, v. 95, n. 6, p. 1039-1047, 2005.