



ARTIGO

Reintrodução de *Cattleya intermedia* Graham (Orchidaceae) em borda e interior de um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual no sul do Brasil

Delio Endres Júnior¹, Márcio Hisayuki Sasamori^{1,2}, Tatieli Silveira¹, Jairo Lizandro Schmitt^{2,3} e Annette Droste^{1,2,*}

Recebido: 1 de julho de 2014

Recebido após revisão: 21 de janeiro de 2015

Aceito: 01 de março de 2015

Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/3082>

RESUMO: (Reintrodução de *Cattleya intermedia* Graham (Orchidaceae) em borda e interior de um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual no sul do Brasil). A fragmentação de habitats ameaça a manutenção de epífitos nos remanescentes florestais, sendo a reintrodução uma ferramenta para a sua conservação. O objetivo deste estudo foi monitorar a reintrodução de plântulas da orquídea epífita *Cattleya intermedia* Graham em borda e interior de um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual em Campo Bom, RS, Brasil. Plântulas obtidas por propagação *in vitro* e aclimatadas a 26 °C foram fixadas aos forófitos na primavera de 2011 e monitoradas por 720 dias. A sobrevivência foi avaliada mensalmente. Antes da reintrodução e trimestralmente foram registrados a altura da parte aérea e o número de folhas de cada plântula. Variáveis meteorológicas foram levantadas trimestralmente na borda e no interior do fragmento florestal. Para comparação de dados entre os ambientes e para avaliação do desenvolvimento das plântulas em cada ambiente foram utilizados os testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). A sobrevivência de plântulas foi de 60,23%, sem diferença significativa entre os ambientes. Na borda, houve redução significativa do número de folhas e da altura da parte aérea dos indivíduos, o que não foi verificado nos indivíduos reintroduzidos no interior. Aos 720 dias após a reintrodução, também na borda, maior porcentagem de indivíduos havia desenvolvido raízes sobre o tronco dos forófitos em relação ao interior (50,85 e 17,02%, respectivamente). A luminosidade e a umidade relativa do ar diferiram significativamente entre os ambientes. A continuidade do monitoramento e a incorporação de parâmetros adicionais contribuirão para a determinação dos requisitos da reintrodução como ferramenta para o sucesso de iniciativas de conservação.

Palavras-chave: conservação, variáveis ambientais, epifitismo, micropropagação, orquídea.

ABSTRACT: (Reintroduction of *Cattleya intermedia* Graham (Orchidaceae) at the edge and interior of a Seasonal Semideciduous Forest fragment in Southern Brazil). Habitat fragmentation threatens the maintenance of epiphytes in forest remnants, and reintroduction of such species is a tool for their conservation. The aim of this study was to monitor the reintroduction of plantlets of the epiphytic orchid *Cattleya intermedia* Graham at the edge and interior of a Seasonal Semideciduous Forest fragment in the municipality of Campo Bom, Rio Grande do Sul state, Brazil. Plantlets obtained through *in vitro* propagation were acclimatized at 26 °C and fixed to the phorophytes in the spring of 2011 and monitored for 720 days. Survival was evaluated on a monthly basis. Shoot height and the number of leaves per plantlet were assessed prior to reintroduction and subsequently on a quarterly basis. Meteorological variables were also assessed on a quarterly basis, at the edge and interior of the forest fragment. Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests were used ($p < 0.05$) to compare data between the two environments and to evaluate plantlet development in each environment. Plantlet survival was 60.23%, with no significant difference between the environments. There was a significant reduction in the number of leaves and in shoot height at the edge, which was not observed at the fragment interior. At 720 days after reintroduction, a higher percentage of plantlets developed roots on phorophytes at the edge than those at the fragment interior (50.85 and 17.02%, respectively). Luminosity and relative air humidity differed significantly between the environments. Continued monitoring and the incorporation of additional parameters will contribute to the determination of the reintroduction requirements, so that reintroduction can be used as a successful tool in conservation initiatives.

Keywords: conservation, environmental variables, epiphytism, micropropagation, orchid

INTRODUÇÃO

Orchidaceae apresenta cerca de 19.000 a 35.000 espécies, das quais aproximadamente 70% apresentam hábito epifítico (Gentry & Dodson 1987, Johnson 2001). *Cattleya intermedia* Graham é uma Orchidaceae epífita endêmica das regiões sul e sudeste do Brasil e ocorre na região fitoecológica da Floresta Estacional Semidecidual, Bioma Floresta Atlântica (Brustulin & Schmitt 2008, Barros *et al.* 2014). Atualmente, a espécie compõe a categoria vulnerável no Livro Vermelho da Flora do Brasil (Neto *et al.* 2013) e, no estado do Rio Grande do Sul,

consta na Lista das Espécies da Flora Ameaçadas (Rio Grande do Sul 2003). A supressão da Floresta Atlântica e a coleta predatória para fins ornamentais constituem as principais causas para o declínio de suas populações (Brustulin & Schmitt 2008, SOS Mata Atlântica 2014). A necessidade de relações simbióticas com micorrizas para a germinação de sementes de orquídeas em seus habitats naturais leva ao estabelecimento de apenas uma baixa porcentagem de plantas (Hadley 1982), o que também contribui para o estado atual de conservação da espécie.

Dentre as ferramentas para conservação de espécies ameaçadas, a reintrodução pode restaurar populações

1. Universidade Feevale, Laboratório de Biotecnologia Vegetal. Rod. RS-239 2755, CEP 93525-075, Novo Hamburgo, RS, Brasil.

2. Universidade Feevale, Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental. Rod. RS-239 2755, CEP 93525-075, Novo Hamburgo, RS, Brasil.

3. Universidade Feevale, Laboratório de Botânica. Rod. RS-239 2755, CEP 93525-075, Novo Hamburgo, RS, Brasil.

* Autor para contato. E-mail: annette@feevale.br

nativas que se encontram em declínio ou restabelecê-las em áreas que já foram parte de sua distribuição, conforme conceito estabelecido pela União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN 1998). O cultivo assimbiótico *in vitro* de orquídeas a partir de sementes fornece plantas que são interessantes para programas de reintrodução (Wochok 1981, Arditti 1982). Para que as plantas sejam reintroduzidas com sucesso em seus habitats naturais, é necessário que se conheçam suas exigências e tolerâncias às condições ambientais tais como luminosidade, umidade e temperatura.

Os indivíduos, quando reintroduzidos em fragmentos florestais, podem sofrer influência da matriz e do efeito de borda (Santos Filho 1995). Junto à borda dos remanescentes, podem ocorrer maior incidência luminosa e temperatura elevada, bem como menor umidade relativa do ar (Murcia 1995, Bernardi & Budke 2010), que influenciam a natalidade e a mortalidade das plantas (Viana & Pinheiro 1998) e são determinantes para seu estabelecimento. Plântulas de espécies epifíticas são especialmente sensíveis à disponibilidade de água, luminosidade e nutrientes (Benzing 1987, Cascante-Marín *et al.* 2008), fatores que podem influenciar na distribuição e abundância destas nos gradientes horizontal e vertical nos fragmentos florestais (Winkler *et al.* 2005, Bataghin *et al.* 2012).

O acompanhamento da sobrevivência e do desenvolvimento de Orchidaceae reintroduzidas pode ser um processo complexo que exige considerável investimento econômico e logístico, uma vez que, em condições naturais, as plantas apresentam crescimento lento, levando um longo período até atingirem a maturidade (Schmidt & Zotz 2002). Além disso, é recomendado que cada iniciativa de reintrodução seja tratada como um experimento individual (Falk *et al.* 1996) que leve em consideração as peculiaridades da espécie, do ambiente e da técnica de reintrodução (Kaye 2009).

Até o momento, um número limitado de estudos tem se dedicado à reintrodução de orquídeas epifíticas (Rubluo *et al.* 1993, Decruse *et al.* 2003) e, especificamente de *Cattleya intermedia* (Dorneles & Trevelin 2011) em ambiente natural, apresentando principalmente dados qualitativos do estabelecimento das plantas. No entanto, tais estudos não avaliaram a reintrodução em borda e interior de fragmentos florestais a partir do monitoramento periódico e da comparação de parâmetros quantitativos de variáveis bióticas e abióticas entre os ambientes.

Neste contexto, visando a investigar se existem diferenças no estabelecimento de *Cattleya intermedia* em borda e interior de um fragmento florestal, o objetivo deste estudo foi avaliar e comparar qualitativa e quantitativamente a sobrevivência e o desenvolvimento de plântulas da referida espécie, obtidas pela propagação *in vitro* e reintroduzidas nestes ambientes. Considerando que na borda as plântulas estão mais expostas a estresse hídrico e térmico, a hipótese é de que a sobrevivência e o desenvolvimento dos indivíduos serão menores neste ambiente.

MATERIAL E MÉTODOS

Cápsulas maduras de *Cattleya intermedia*, das quais foram obtidas as sementes, foram coletadas em um fragmento florestal da região de estudo. As sementes foram semeadas em frascos (capacidade de 200 mL, diâmetro de 7 cm) contendo 30 mL de meio de cultura MS (Murashige & Skoog 1962) semi-sólido, acrescido de sacarose e carvão ativado. Após nove meses, 250 plântulas com altura da parte aérea entre 3,5 e 4,0 cm foram retiradas dos frascos, amarradas a placas de casca de pinus (5 x 10 cm) e aclimatadas em ambiente interno a 26 ± 1 °C. Durante a aclimação, as plântulas foram regadas periodicamente com água para manutenção da umidade junto ao substrato e borrifadas quinzenalmente com fertilizante Peters Professional® 20-20-20 (Scotts Company LLC), com a metade da concentração indicada pelo fabricante ($1,0 \text{ g L}^{-1}$).

A reintrodução foi realizada em um fragmento de floresta secundária em estágio avançado de sucessão, com área de 60 ha, localizado no município de Campo Bom, entre as coordenadas geográficas 29°40'06" S, 50°00'36" O e 29°40'44" S, 50°01'05" O, com altitude de 45 metros. Campo Bom está localizado na encosta inferior do nordeste do estado do Rio Grande do Sul e no terço inferior da Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos (Fig. 1) (FEPAM 2014). A vegetação da área de estudo pertence ao Bioma Floresta Atlântica e à unidade fitoecológica da Floresta Estacional Semidecidual Submontana (IBGE 2012).

Os forófitos foram escolhidos ao longo de dois transectos de 100 metros de comprimento, respectivamente, um destes localizado entre cinco e 15 m da margem do fragmento florestal, e o outro entre 160 e 170 m da margem. Os dois transectos estão posicionados paralelamente à margem sudoeste do fragmento (Fig. 1). Em cada ambiente – borda e interior – foram selecionados 22 indivíduos arbóreos de angiosperma com diâmetro à altura do peito (DAP) mínimo de 10 cm e fuste medindo no mínimo quatro metros de altura. Além disso, as árvores escolhidas originalmente apresentavam epífitos, indicando a possibilidade de estabelecimento destas plantas.

Anteriormente à reintrodução em ambiente natural, foram escolhidas as plântulas que apresentavam, no mínimo, uma raiz fixada ao substrato. Foram selecionados 176 indivíduos, os quais tiveram as seguintes variáveis avaliadas: altura da parte aérea (distância em cm entre a base do rizoma e o ápice da maior folha) e número de folhas. As plântulas foram fixadas no fuste dos forófitos por meio de um arame flexível, na primavera (novembro) de 2011. Foram fixados quatro indivíduos por forófito, no intervalo entre 3,5 e 4,0 metros de altura, na face leste do fuste. A escolha da face teve relação com a radiação solar, de forma que a incidência de luz sobre as plântulas não fosse direta nos períodos mais quentes do dia. O monitoramento foi realizado de novembro de 2011 (reintrodução) a novembro de 2013.

Para a caracterização ambiental, foram registradas a luminosidade, a umidade relativa do ar e a temperatura com o uso de um termo-higro-anemômetro luxímetro

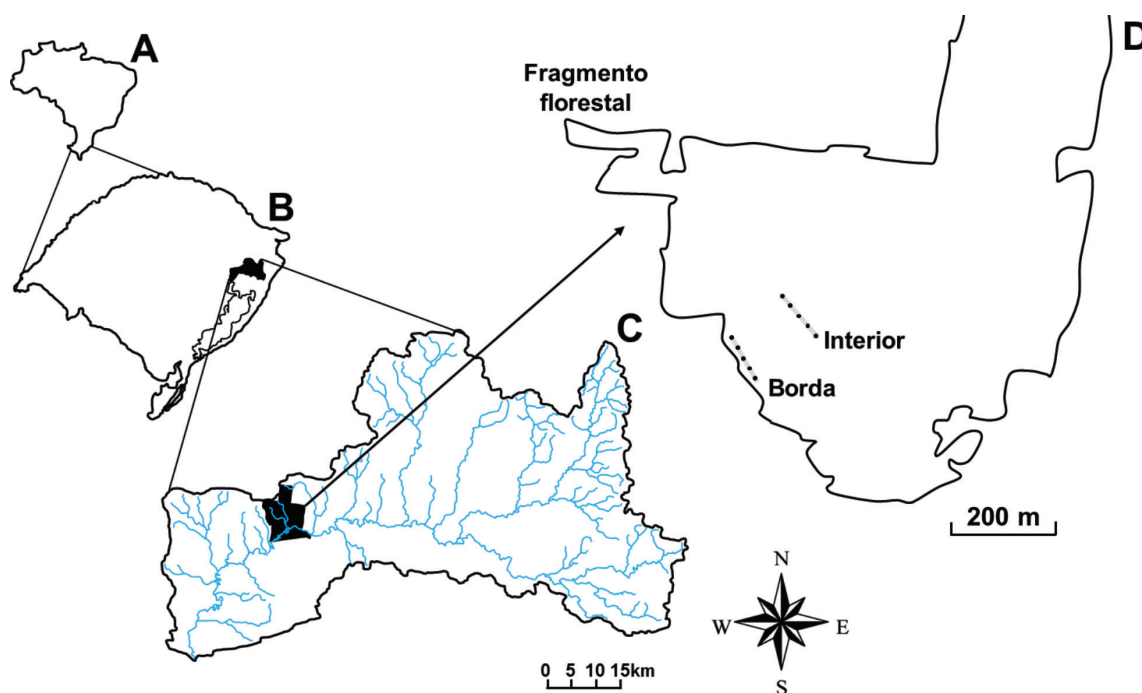


Figura 1. A. Brasil. B. Estado do Rio Grande do Sul. C. Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos, em destaque o município de Campo Bom. D. Localização das unidades amostrais de borda e interior no fragmento florestal (os pontos representam os locais de levantamento dos dados meteorológicos).

digital portátil (THAL-300 Instrutherm), a uma altura de 1,5 m do solo, conforme Bernardi & Budke (2010), totalizando oito levantamentos trimestrais. A coleta dos dados ocorreu em um dia ensolarado de cada estação, das 8 às 18 h, com intervalos de duas horas, perfazendo um total de seis medições que deram origem a médias diárias. Por ambiente, as medições diárias foram realizadas junto a cinco forófitos, dois localizados nas extremidades dos transectos e os demais distribuídos igualmente em direção ao centro desses. Os dados de precipitação acumulada mensal (24 meses) foram obtidos junto à Estação Meteorológica de Campo Bom (29°41'11" S, 51°02'51" O).

As plântulas foram monitoradas mensalmente em campo durante 24 meses, para avaliação da sobrevivência. Antes da reintrodução e a cada três meses, as plântulas tiveram avaliadas as seguintes variáveis: altura da parte aérea (distância em cm entre a base do rizoma e o ápice da maior folha) e número de folhas. Ao final do experimento (720 dias após a reintrodução), foram avaliadas a presença/ausência de pseudobulbos (estruturas caulinares de reserva) e a fixação das raízes das plântulas aos forófitos. Como as plântulas não apresentavam pseudobulbos no momento da reintrodução, sua ocorrência nos indivíduos foi registrada desde que apresentassem um tamanho igual ou maior a 1,5 cm. A fixação das raízes foi considerada para aqueles indivíduos que apresentassem pelo menos uma raiz com 2 cm de comprimento, no mínimo, diretamente fixada ao forófito.

Para as análises estatísticas, foram utilizados os programas SPSS 20 e Bioestat 5.3. Os dados bióticos número de plântulas vivas por forófito, altura da parte aérea, número de folhas por plântula, porcentagem de

plântulas com enraizamento e porcentagem de plântulas com pseudobulbos, bem como os dados meteorológicos luminosidade, temperatura e umidade relativa do ar, foram comparados entre os ambientes de borda e interior pelo teste de Mann-Whitney a 5% de probabilidade. Para cada ambiente, as comparações de altura da parte aérea e número de folhas entre os levantamentos trimestrais foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Student-Newman-Keuls a 5% de probabilidade.

RESULTADOS

Em relação às variáveis ambientais, a temperatura média do período de monitoramento não diferiu significativamente entre os ambientes de borda e interior. A luminosidade média foi significativamente superior na borda, enquanto que a umidade relativa do ar foi significativamente superior no interior (Tab. 1). Em relação à precipitação, o mês com maior volume acumu-

Tabela 1. Luminosidade (Lux), temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) registradas nos ambientes de borda e interior ao longo do monitoramento da reintrodução de *Cattleya intermedia*.

Variável	Ambiente	Média ± DP ¹	U ²	p
Luminosidade	Borda	334,7 ± 246,4	410,00	< 0,001
	Interior	194,1 ± 125,0		
Umidade	Borda	65,9 ± 5,2	594,5	0,048
	Interior	68,1 ± 5,1		
Temperatura	Borda	23,5 ± 4,9	759,5	0,700
	Interior	23,4 ± 4,6		

1. Desvio padrão.

2. Valor do teste de Mann-Whitney.

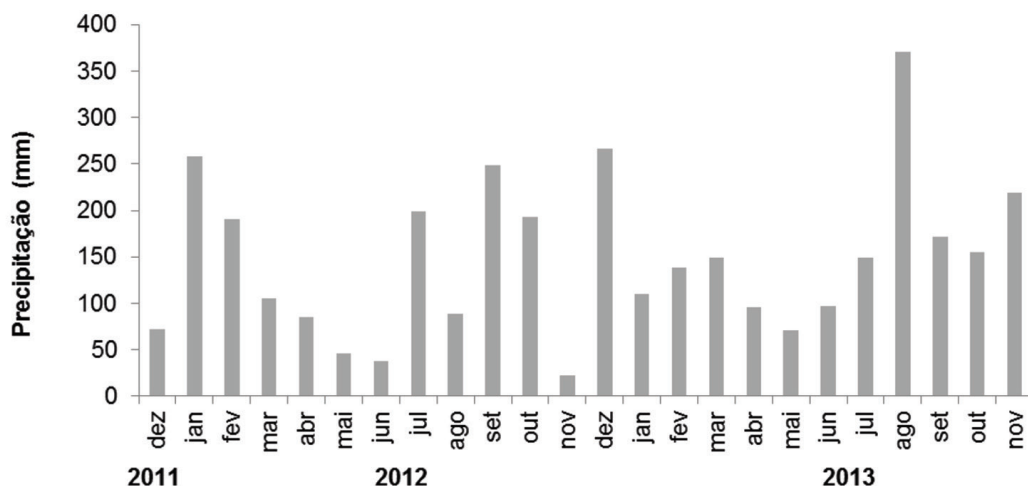


Figura 2. Precipitação mensal acumulada no município de Campo Bom, nos meses de monitoramento da reintrodução de *Cattleya intermedia*.

lado foi agosto de 2013 e o de menor volume acumulado foi novembro de 2012, com registros de 370,7 e 22,0 mm, respectivamente (Fig. 2).

Ao fim do período de monitoramento, a sobrevivência foi de 106 indivíduos, que correspondeu a 60,23% do total de plantas reintroduzidas no fragmento florestal. Foi observada maior sobrevivência na borda ao fim do primeiro e do segundo ano (70 e 59 indivíduos, respectivamente), em relação ao interior (58 e 47, respectivamente) (Fig. 3). Entretanto, quando a sobrevivência de plântulas por forófito nos dois ambientes foi comparada estatisticamente, não houve diferença significativa ($U = 199$, $p = 0,313$). A maior mortalidade de indivíduos ocorreu em janeiro de 2012 (16 plântulas), dos quais 13 se encontravam no interior e apenas três na borda (Fig. 3). Outro mês no qual houve alta mortalidade de plântulas foi outubro de 2012, em que morreram 10 plântulas, das quais nove se encontravam no interior e uma na borda.

Houve redução significativa da altura da parte aérea das plântulas de *Cattleya intermedia* reintroduzidas na borda durante o período avaliado ($H = 48,54$, $p < 0,001$) (Fig. 4). No interior, a redução na altura das plântulas não foi significativa ($H = 6,15$, $p = 0,630$). Quando comparados os ambientes de borda e interior, a partir dos 270 dias após a

reintrodução, a altura da parte aérea das plântulas diferiu significativamente, sendo sempre maior no ambiente de interior (Tab. 2). Aos 720 dias após a reintrodução, a altura da parte aérea das plântulas na borda variou de 0,7 a 11,0 cm e no interior variou de 1,5 a 7,4 cm (Fig. 5).

Foi verificada variação significativa no número de folhas das plântulas ao longo dos levantamentos na borda ($H = 29,13$ e $p < 0,001$) e no interior ($H = 25,93$ e $p = 0,001$) (Fig. 4). Ao serem comparadas as médias do número de folhas observadas na borda e interior, houve diferenças significativas já aos 90 dias, o que se manteve até os 630 dias após a reintrodução, sendo maiores no ambiente de interior. Aos 720 dias após a reintrodução, tal diferença não foi verificada (Tab. 2).

Aos 720 dias após a reintrodução, o enraizamento foi estatisticamente superior na borda em relação ao interior, sendo observadas 50,85% e 17,02% plântulas com raízes fixadas ao forófito, respectivamente ($U = 78,50$ e $p = 0,005$). Em relação à presença de pseudobulbo, foram verificados na borda 32,20% do total de indivíduos vivos com tal estrutura, enquanto que no interior o valor foi de 19,15% indivíduos, sem diferença significativa entre os dois ambientes ($U = 154,5$ e $p = 0,637$).

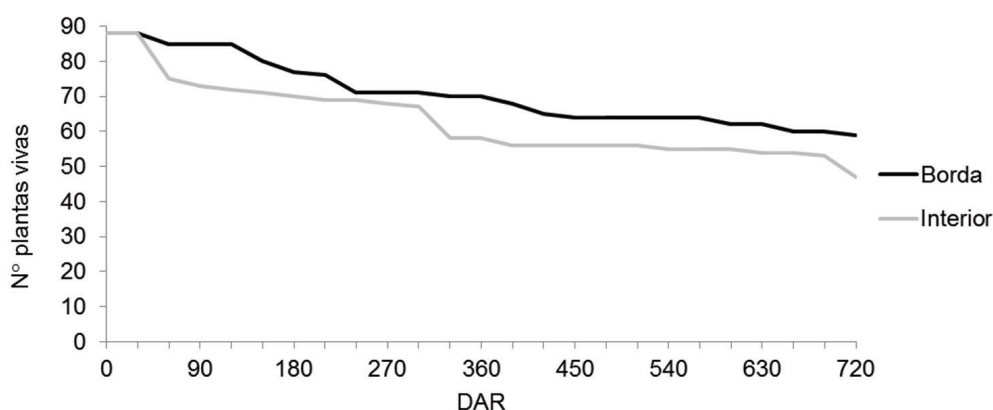


Figura 3. Sobrevivência de plântulas de *Cattleya intermedia* durante 720 dias após a reintrodução (DAR) no ambiente florestal.

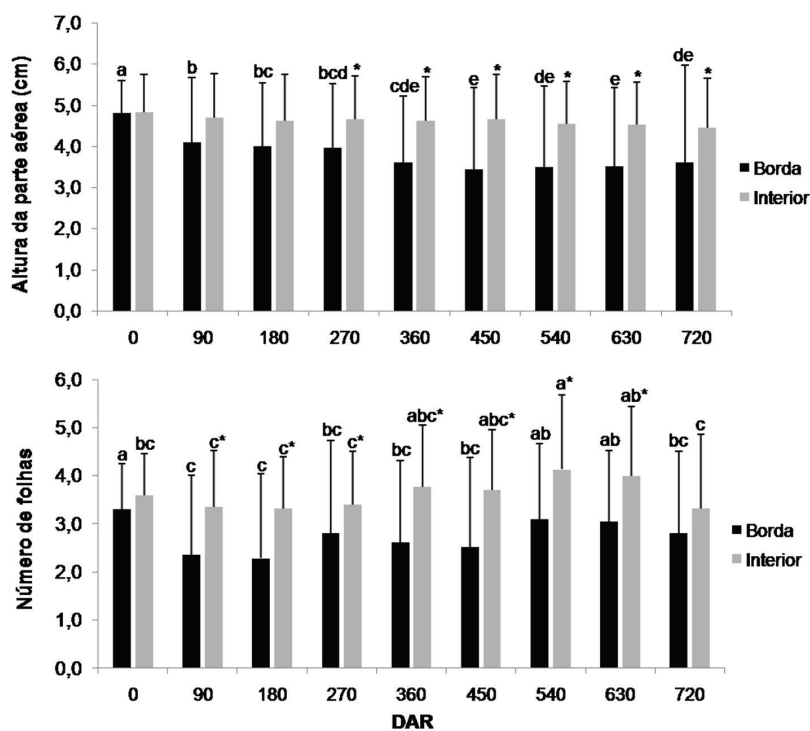


Figura 4. Altura da parte aérea e número de folhas (média $\pm$ D.P.) das plântulas (DAR=dias após reintrodução). Letras diferentes (barras de mesma cor) representam diferença significativa segundo o teste de Student-Newman-Keuls.

*Indica diferença significativa entre ambientes por levantamento, segundo o teste de Mann-Whitney.

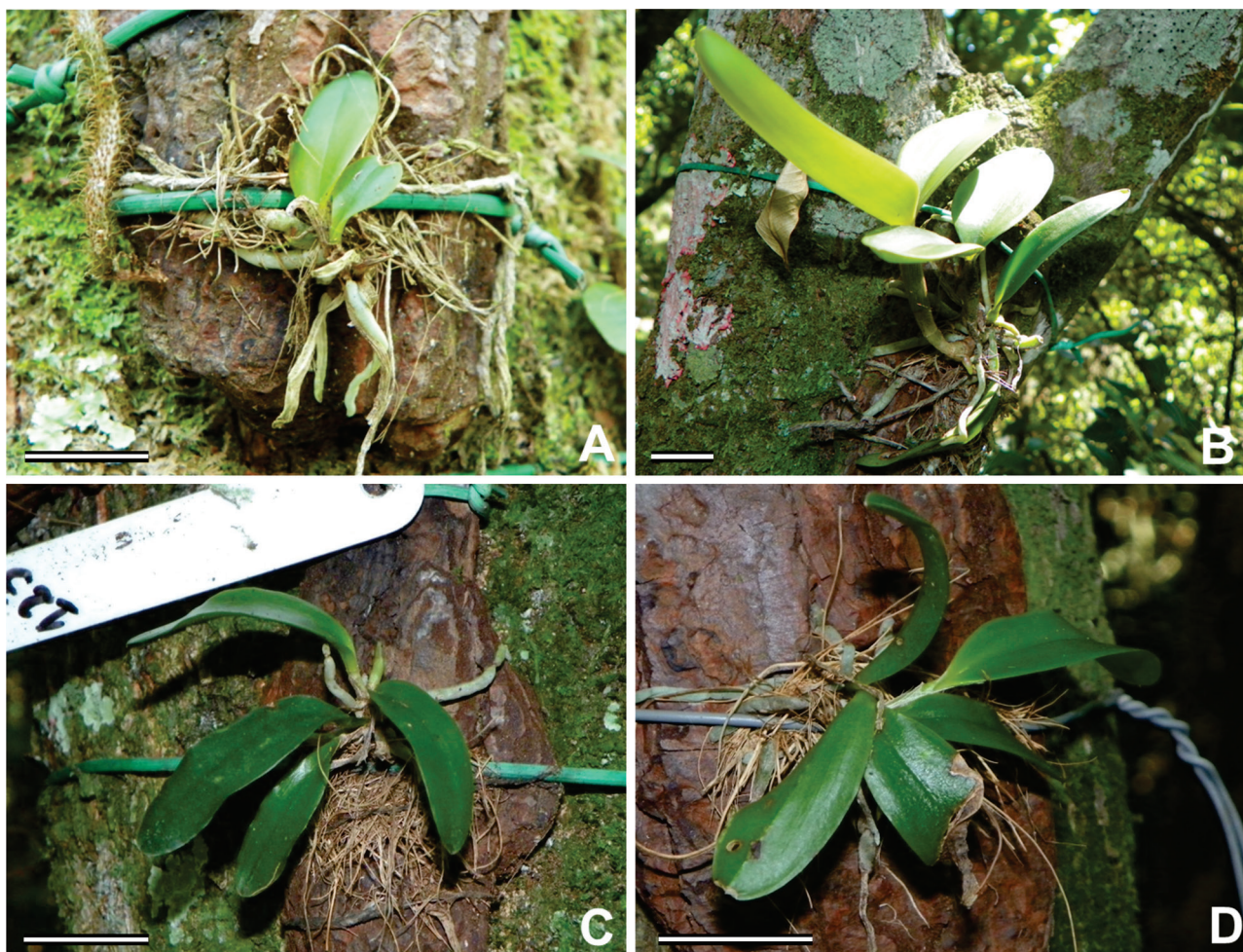


Figura 5. Plântulas na borda (A e B) e no interior (C e D) do fragmento florestal, 720 dias após a sua reintrodução. Barras: 2 cm.

Tabela 2. Resultados estatísticos da comparação de dados morfo-métricos de plântulas de *Cattleya intermedia* reintroduzidas nos ambientes de borda e interior do fragmento florestal.

DAR	Altura da Parte Aérea		Número de Folhas	
	U ¹	p	U	p
0	3867,5	0,989	3210,0	0,050
90	2629,0	0,099	1973,5	< 0,001
180	2221,5	0,066	1740,5	< 0,001
270	1973,5	0,047	1971,5	0,046
360	1334,0	< 0,001	1198,0	< 0,001
450	1081,5	< 0,001	1021,0	< 0,001
540	1070,0	< 0,001	1096,0	< 0,001
630	989,5	< 0,001	1078,0	0,001
720	958,5	0,007	1138,0	0,114

1. Valor do teste de Mann-Whitney.

DISCUSSÃO

As plântulas de *Cattleya intermedia* obtidas por semeadura *in vitro* apresentaram sobrevivência de 60,23% após dois anos de reintrodução. Apesar de ter sido utilizada a técnica de semeadura assimbiótica, o estabelecimento dos indivíduos pode estar relacionado ao fato de terem sido reintroduzidos em uma formação florestal típica de ocorrência da espécie (Brustulin & Schmitt 2008, Buzzatto *et al.* 2007), o que pode ter facilitado a formação de associações simbióticas após a reintrodução. Mesmo em estágio jovem, as plântulas reintroduzidas devem ter apresentado condições fisiológicas para se desenvolver sem o aporte simbiótico, o que foi evidenciado pelo desenvolvimento de novas folhas e raízes. No entanto, a reintrodução em ambiente de ocorrência natural por si só não assegura a sobrevivência de algumas espécies de Orchidaceae, sendo necessário o estabelecimento da associação simbiótica prévia à reintrodução, como observado para *Vanda coerulea* Griff. ex Lindl., que apresentou 80 e 10% de sobrevivência após propagação simbiótica a assimbiótica, respectivamente (Aggarwal *et al.* 2012).

A maior mortalidade de plântulas observada em janeiro de 2012 provavelmente tem relação com o estresse induzido pela mudança de um ambiente com condições abióticas controladas e umidade constante para o ambiente florestal, onde as plântulas estão sujeitas a oscilações climáticas e disponibilidade hídrica em pulsos (Benzing 1990). O estresse hídrico é um dos principais obstáculos ao estabelecimento inicial de plântulas de epífitos (Zotz & Hietz 2001).

Considerando que a altura da parte aérea das plântulas foi mensurada pela distância entre a base do rizoma e o ápice da maior folha, a queda foliar verificada nos primeiros meses após a reintrodução foi responsável pela redução significativa deste parâmetro em grande parte das plântulas na borda do fragmento florestal. Neste ambiente, a luminosidade foi superior em relação ao interior florestal. Embora a exposição das superfícies foliares à luz proporcione maior produção de fotossintatos, esta pode também ocasionar a perda de água por parte das plântulas, desencadeando respostas fisiológicas, como a queda foliar (Taiz & Zeiger 2013). Durante a aclimação

em um ambiente, as plantas sofrem alterações morfoanatômicas, que as adaptam para realização de fotossíntese e redução da perda de água frente às novas condições ambientais (Taiz & Zeiger 2013). O fenômeno de abscisão foliar observado em *Cattleya intermedia*, também pode ser verificado em árvores, em resposta ao estresse hídrico, quando expostas às novas bordas de fragmentos florestais (Laurance *et al.* 2001).

No presente estudo, a redução da altura da parte aérea e do número de folhas das plântulas, significativamente maior na borda, pode ter sido influenciada pela ocorrência de insetos herbívoros. Na borda, foi registrada a ocorrência de Thysanoptera, que apresentam registros de parasitismo em Orchidaceae (Silva *et al.* 1968, Cavalleri *et al.* 2006), bem como do Hemiptera *Tenthecoris bicolor* J. Scott., os quais podem ocasionar a morte dos tecidos foliares, levando à formação de manchas cloróticas e até à abscisão da folha (Rivera-Coto & Corrales-Moreira 2007, Light & McConaill 2011). Em ambos os ambientes, larvas de lepidópteros foram encontradas se alimentando das folhas das plântulas. Os indivíduos foram posteriormente identificados como *Ithomiola nepos* (Fabricius, 1793) (anteriormente considerada no gênero *Napaea*), a qual já foi registrada se alimentando de espécies de orquídea (Callaghan 1991, Siewert *et al.* 2014). Apesar de a herbivoria ter sido observada principalmente na borda, a maior mortalidade de plântulas de *C. intermedia* foi observada no interior, indicando que outros fatores possam estar mais fortemente relacionados à capacidade de estabelecimento dos indivíduos.

O desenvolvimento das plântulas introduzidas na borda apresentou um comportamento heterogêneo. As plântulas que apresentaram grande redução na parte aérea, sendo inclusive verificada queda foliar total em alguns indivíduos, tiveram desenvolvimento prejudicado, formando novos brotos de tamanho bastante reduzido, com crescimento lento e menor enraizamento. Por outro lado, diversos indivíduos não perderam folhas e em consequência não tiveram redução drástica da parte aérea após a reintrodução na borda. Estes indivíduos apresentaram condições para maior aproveitamento da luminosidade, superior neste ambiente, para produção de carboidratos necessários à manutenção de seu metabolismo e também para o seu crescimento (Taiz & Zeiger 2013). A heterogeneidade de respostas dos indivíduos às condições meteorológicas do mesmo ambiente pode ter sido influenciada, em parte, pela sua variabilidade genética, uma vez que as plântulas foram propagadas a partir de sementes (Torres *et al.* 1998). Tal característica torna-se importante na tentativa de recuperação de espécies ameaçadas, pois fornece maior plasticidade à população em estabelecimento, garantindo assim sua sobrevivência (Rubluo *et al.* 1993).

Em ambos os ambientes do fragmento florestal, plântulas formaram pseudobulbos e raízes. O fato de as plântulas de orquídea se apresentarem já com raízes estabelecidas no substrato de casca de pinus no momento da reintrodução evitou que estas fossem danificadas du-

rante a fixação ao forófito e contribuiu para o crescimento continuado, uma vez que as pontas de raízes danificadas prejudicam o estabelecimento dos indivíduos (Seeni & Latha 2000). Na borda, uma porcentagem maior de plântulas fixou suas raízes nos fustes dos forófitos, por vezes entrando em fendas ou sob a casca, permitindo maior acesso à água e a nutrientes presentes no tronco. *Cattleya intermedia* apresenta uma série de características que permitem seu desenvolvimento frente às limitações do ambiente epifítico, como suculência foliar, suculência caular evidenciada pela presença de pseudobulbos, e raízes com velame, as quais conferem às plantas maior resistência à seca, que permite sua ocorrência mesmo em árvores isoladas (Gonçalves & Waechter 2003). Assim como outras orquídeas de crescimento simpodial, os novos brotos de plântulas de *C. intermedia* se formam a partir de gemas presentes no rizoma do broto anterior (Zotz & Schmidt 2006). O desenvolvimento de brotações é dependente da transferência de energia produzida pela planta ou armazenada nos pseudobulbos (Zimmerman 1990, Hew & Ng 1996). Portanto, danos causados por herbívoros em rizomas e pseudobulbos têm efeito direto, podendo ocasionar até a morte da plântula. Entretanto, a herbivoria das folhas de forma recorrente também se mostrou prejudicial, já que a injúria destes órgãos reduz sua capacidade fotossintética.

Os resultados indicaram que a sobrevivência bem como o número de folhas e de pseudobulbos por indivíduo foram estatisticamente equivalentes na borda e no interior florestal. Apenas a altura da parte aérea foi significativamente superior nas plântulas reintroduzidas no interior, enquanto que enraizamento foi maior na borda. A continuidade do monitoramento e a incorporação de parâmetros adicionais, como dados fenológicos e anatômicos, contribuirão para a determinação dos requisitos da reintrodução como ferramenta para o sucesso de iniciativas de conservação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Feevale, pela infraestrutura e pelo apoio financeiro; à FAPERGS, pelas Bolsas de Iniciação Científica de D. Endres Júnior (PROBIC) e de T. Silveira (PROBITI); ao CNPq, pela Bolsa de Iniciação Científica (PIBIC) de M. H. Sasamori; e a Ricardo R. Siewert, pela identificação e informações sobre a espécie de Lepidoptera *Ithomiola nepos*.

REFERÊNCIAS

AGGARWAL, S., NIRMALA, C., BERI, S., RASTOGI, S. & AD-HOLEYA, A. 2012. *In vitro* symbiotic seed germination and molecular characterization of associated endophytic fungi in a commercially important and endangered indian orchid *Vanda coerulea* Griff. Ex Lindl. *European Journal of Environmental Sciences*, 2(1): 33-42.

ARDITTI, J., CLEMENTS, M. A., FAST, G., HADLEY, G., NISHIMURA, G. & ERNST, R. 1982. Orchid seed germination and seedling culture a manual. In: ARDITTI, J. (Ed.) *Orchid biology: reviews and perspectives*, II. Ithaca: Cornell University Press. p. 243-370.

BARROS, F. de, VINHOS, F., RODRIGUES, V. T., BARBARENA, F. F.

V. A., FRAGA, C. N., PESSOA, E. M. 2014. Orchidaceae. In: *Lista das Espécies da Flora do Brasil*. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB11338>. Acesso em: 21 mar. 2014.

BATAGHIN, F. A., PIRES, J. S. R. & BARROS, F. de. 2012. Epifitismo vascular em sítios de borda e interior em Floresta Estacional Semidecidual do Sudeste do Brasil. *Hoehnea*, 39(2): 235-245.

BENZING, D. H. 1987. Vascular Epiphytism: taxonomic participation and adaptive diversity. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 74(2): 183-204.

BENZING, D. H. 1990. *Vascular epiphytes*. Cambridge: Cambridge University Press. 354 p.

BERNARDI, S. & BUDKE, J. C. 2010. Estrutura da sinúsia epifítica e efeito de borda em uma área de transição entre Floresta Estacional Semidecidual e Floresta Ombrófila Mista. *Floresta*, 40(1): 81-92.

BRUSTULIN, J. & SCHMITT, J. L. 2008. Composição florística, distribuição vertical e floração de orquídeas epifíticas em três parques municipais do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Pesquisas Botânicas*, 59: 143-158.

BUZATTO, C. R., FREITAS, E. M., SILVA, A. P. M. da & LIMA, L. F. P. 2007. Levantamento florístico das Orchidaceae ocorrentes na Fazenda São Maximiano, município de Guaíba, Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Biociências*, 5(2-3): 19-25.

CALLAGHAN, C. J. 1991. Notes on the immature biology of two Riodinine butterflies: *Metacharis ptolomaeus* and *Napaea nepos orpheus* (Lycaenidae). *Journal of Research on the Lepidoptera*, 30(3-4): 221-224.

CASCANTE-MARÍN, A., WOLF, J. H. D., OOSTERMEIJER, J. G. B. & NIJS, J. C. M. den. 2008. Establishment of epiphytic bromeliads in successional tropical premontane forests in Costa Rica. *Biotropica*, 40(4): 441-448.

CAVALLERI, A., ROMANOWSKI, H. P. & REDAELLI, L. R. 2006. Thrips species (Insecta, Thysanoptera) inhabiting plants of the Parque Estadual de Itapuã, Viamão, Rio Grande do Sul state, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 23(2): 367-374.

DECRUSE, S. W., GANGAPRASAD, A., SEENI, S. & MENON, S. 2003. Micropropagation and ecorestoration of *Vanda spathulata*, an exquisite orchid. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 72: 199-202.

DORNELES, L. T. & TREVELIN, V. 2011. Acclimação e reintrodução de *Cattleya intermedia* Graham ex Hook (Orchidaceae) obtidas por propagação *in vitro*. *Iheringia, Série Botânica*, 66: 167-174.

FALK, D. A., MILLAR, C. I. & OLWELL, M. 1996. Guidelines for Developing a Rare Plant Reintroduction Plan. In: FALK, D. A., MILLAR, C. I. & OLWELL, M. (Ed.). *Restoring diversity: strategies for reintroduction of endangered plants*. Washington: Island Press. p. 453-490.

FEPAM – Qualidade Ambiental – Região Hidrográfica do Guaíba. Disponível em: http://www.fepam.rs.gov.br/qualidade/qualidade_sinos/sinos.asp. Acesso em: 16 jun. 2014.

GENTRY, A. H. & DODSON, C. H. 1987. Diversity and Biogeography of Neotropical Vascular Epiphytes. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 74: 205-233.

GONÇALVES, C. N. & WAECHTER, J. L. 2003. Aspectos florísticos e ecológicos de epífitos vasculares sobre figueiras isoladas no norte da planície costeira do Rio Grande do Sul. *Acta Botanica Brasilica*, 17(1): 89-100.

HADLEY, G. Orchid mycorrhiza. 1982. In: ARDITTI, J. (Ed.) *Orchid biology: reviews and perspectives*, II. Ithaca: Cornell University Press. p. 83-118.

HEW, C. S. & NG, C. K. Y. 1996. Changes in mineral and carbohydrate content in pseudobulbs of the C3 epiphytic orchid hybrid *Oncidium goldiana* at different growth stages. *Lindleyana*, 11: 125-134.

IBGE. *Manual técnico da vegetação brasileira: sistema fitogeográfico, inventário das formações florestais e campestres, técnicas e manejo de coleções botânicas, procedimentos para mapeamentos*. 2ª ed. IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, 2012. p. 275.

IUCN – *Guidelines for Re-introductions*. Prepared by IUCN/SSC Re-

- introduction Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK, 1998. 10 p. Disponível em: http://intranet.iucn.org/webfiles/doc/SSC/SSCwebsite/Policy_statements/Reintroduction_guidelines.pdf. Acesso em: 14 dez. 2013.
- JOHNSON, A. E. 2001. *Las Orquídeas del Parque Nacional Iguazú*. Buenos Aires: L.O.L.A.
- KAYE, T. N. 2009. Toward successful reintroductions: the combined importance of species traits, site quality, and restoration technique. In: *Proceedings of the 22nd California Native Plant Society Conference: Current Threat to California's Native Flora, Strategies and Solutions*. Sacramento: California Native Plant Society. p. 99-106.
- LAURANCE, W. F., WILLIAMSON, G. B., DELAMÔNICA, P., OLIVEIRA, A., LOVEJOYS, T. E., GASCON, C. & POHL, L. 2001. Effects of a Strong drought on Amazonian forest fragments and edges. *Journal of Tropical Ecology*, 17: 771-785.
- LIGHT, M. H. S. & MCCONAILL, M. 2011. Potential impact of insect herbivories on orchid conservation. *European Journal of Environmental Sciences*, 1(2): 115-124.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497.
- MURCIA, C. 1995. Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. *Tree*, 10(2): 58-62.
- NETO, L. M., BARROS, F. de, VINHOS, F., FURTADO, S. G., JUDICE, D. M., FERNANDEZ, E. P., SFAIR, J. C., BARROS, F. S. M., PRIETO, P. V., KUTSCHENKO, D. C., MORAES, M. A., ZANATA, M. R. V., FILHO, L. A. F. S. 2013. ORCHIDACEAE. In: MARTINELLI, G. & MORAES, M. A. (Orgs.) 2013. *Livro Vermelho da Flora do Brasil*. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
- RIO GRANDE DO SUL. 2003. Decreto nº 42.099, de 31 de dezembro 2002. Declara as espécies da flora nativa ameaçadas de extinção do Estado do Rio Grande do Sul e dá outras providências. *Lex-Diário Oficial do Rio Grande do Sul*, ano LXII, nº1, 1-6.
- RIVERA-COTO, G. & CORRALES-MOREIRA, G. 2007. Problemas fitossanitários que amenazan la conservación de las orquídeas em Costa Rica. *Lankesteriana*, 7(1-2): 347-352.
- RUBLUO, A., CHÁVEZ, V., MARTÍNEZ, A. P. & MARTÍNEZ-VÁZQUEZ. 1993. Strategies for the recovery of endangered orchids and cacti through *in-vitro* culture. *Biological Conservation*, 63: 163-169.
- SANTOS FILHO, P. S. 1995. Fragmentação de habitats: implicações para conservação *in situ*. *Oecologia Brasiliensis*, 1: 365-393.
- SCHMIDT, G. & ZOTZ, G. 2002. Inherently slow growth in two Caribbean epiphyte species – a demographic approach. *Journal of Vegetation Science*, 13: 527-534.
- SEENI, S. & LATHA, P. G. 2000. *In vitro* multiplication and ecorehabilitation of the endangered Blue Vanda. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 61: 1-8.
- SIEWERT, R. R., ISERHARD, C. A., ROMANOWSKI, H. P., CALLAGHAN, C. J. & MOSER, A. 2014. Distribution patterns of riordinid butterflies (Lepidoptera: Riordinidae) from southern Brazil. *Zoological Studies*, 53: 15.
- SILVA, A. G. A., GONÇALVES, C. R., GALVÃO, D. M., GONÇALVES, A. J. L., GOMES, J., SILVA, M. M. & SIMONI, L. 1968. *Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil, seus parasitos e predadores. Parte II - 1º Tomo - Insetos, hospedeiros e inimigos naturais*. Guanabara, Ministério da Agricultura, Departamento de Defesa e Inspeção Agropecuária. p. 622.
- SOS MATA ATLÂNTICA. 2014. A Mata Atlântica. Disponível em: <http://www.sosma.org.br/nossa-causa/a-mata-atlantica/> Acesso em: 14 jun. 2014.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. 2013. *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre: Artmed. 954 p.
- TORRES, A. C., CALDAS, L. S. & BUSO, J. A. 1998. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa. 509 p.
- VIANA, V. M. & PINHEIRO, L. A. F. V. 1998. Conservação da biodiversidade em fragmentos florestais. *Série Técnica*, 12(32): 25-42.
- WINKLER, M., HÜLBER, K. & HIETZ, P. 2005. Effect of Canopy Position on Germination and Survival of Epiphytic Bromeliads in a Mexican Humid Montane Forest. *Annals of Botany*, 95: 1039-1047.
- WOCHOK, Z. S. 1981. The role of tissue culture in preserving threatened and endangered plant species. *Biological Conservation*, 20: 83-89.
- ZIMMERMAN, J. K. 1990. Role of pseudobulb in growth and flowering of *Catasetum viridiflavum* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 77(4): 533-542.
- ZOTZ, G. & HIETZ, P. 2001. The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. *Journal of Experimental Botany*, 52(364): 2067-2078.
- ZOTZ, G. & SCHMIDT, G. 2006. Population decline in the epiphytic orchid *Aspasia principissa*. *Biological Conservation*, 129: 82-90.