

ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE ORQUÍDEAS¹

VERONICA ALVAREZ-PARDO², ALFREDO GUI FERREIRA³

RESUMO - Sementes de dezesseis espécies de orquídeas foram armazenadas a 5°C por até 42 meses, sendo verificada a viabilidade pelo teste de tetrazólio e de germinação. Houve perda da viabilidade conforme incremento no período de armazenamento. Por doze meses, a maioria das espécies estocadas a 5°C, em dessecador com umidade relativa de + 6% de conteúdo de água, conservou a viabilidade próxima aos 100%, com exceção da *Cattleya labiata* que apresentou queda de cerca de 50% da viabilidade inicial. *Cattleya intermedia*, *Encyclia pygmaea*, *E. odorantissima*, *Grobya* sp., *Oncidium flexuosum*, *Oncidium pumilum* e um híbrido natural, *Laeliocattleya* conservaram, em geladeira, a viabilidade das sementes acima de 90%, por até 24 meses. Para *Cattleya intermedia*, realizou-se armazenamento de sementes em tubos de polipropileno a 5, -18 e a 25°C, em dessecador ou condições ambientais sem controle de umidade. Em condições de laboratório houve perda quase total da viabilidade das sementes. A estocagem em geladeira a 5°C ou em “freezer” a -18°C fornece condições adequadas para conservar a viabilidade de sementes de orquídeas. Com essa mesma espécie, as sementes foram armazenadas a -18°C durante 24 semanas, sendo testada semanalmente sua viabilidade. Para tais avaliações, as sementes eram transferidas diretamente de -18°C para temperatura ambiente de laboratório (25°C) ou indiretamente, por uma hora a 5°C, depois para temperatura ambiente por uma hora. A transferência indireta foi mais eficiente na conservação da viabilidade.

Termos para indexação: conservação, tetrazólio, germinação, viabilidade.

ORCHID SEED STORAGE

ABSTRACT - Orchid seeds of sixteen Brazilian Southern species were stored at 5°C up to 42 months, when the viability was tested by the tetrazolium or germination performance. There was loss of viability when storage was extended. For one year, the viability of the majority of the seeds stored at 5°C in a desiccator with ± 6% of water content was preserved near to 100%, except for *Cattleya labiata* which lost around 50% of its seeds' viability. *Cattleya intermedia*, *Encyclia pygmaea*, *E. odorantissima*, *Grobya* sp., *Oncidium flexuosum*, *O. pumilum* and one natural hybrid of *Laeliocattleya* maintained seed viability of over 90% to 24 months at 5°C. *Cattleya intermedia* seeds were stored in polypropylene tubes at 5°C or -18°C and either 25°C in a desiccator or in open flasks under laboratory environmental conditions. Most the seeds of this species died under laboratory conditions in one year. Storage at 5°C or in a freezer (-18°C) were the best conditions to maintain the orchid seed viability. With this same species the seeds were stored at -18°C for 24 weeks, and the viability tested weekly. The seeds were transferred directly from this temperature to 25°C or indirectly, for one hour at 5°C, and then to the environmental temperature in the laboratory (25°C). The indirect transfer preserved viability more efficiently.

Index terms: conservation, tetrazolium, germination, viability

¹ Submetido em 16/09/2004. Aceito para publicação em 28/03/2005. Parte da tese de doutorado apresentada para o Programa de Pós-graduação em Botânica/UFRGS, pelo primeiro autor;

² Eng. Agrônomo, doutora. Professora substituta do Departamento de

Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS);

³ Professor titular do Departamento de Botânica da UFRGS e bolsista do CNPq. Caixa postal 15015, Porto Alegre, RS, Brasil. CEP 91501-970, ferreira@unb.br

INTRODUÇÃO

O procedimento de armazenamento utilizado na conservação de sementes tem sido escassamente abordado para armazenamento de sementes de orquídeas (Seaton e Hailes, 1989; Jesup, 1996).

Sugere-se que as sementes de orquídeas apresentam comportamento semelhante aos das sementes ortodoxas (Pritchard e Seaton, 1993; Pritchard et al., 1999). E, como tais, são fisiologicamente afetadas pelas condições de armazenamento, incluindo as de criopreservação (Pritchard e Prendergast, 1989).

A vitalidade dessas sementes pode ser favorecida com a adequação do período de coleta dos frutos e com as reduções do teor de água das sementes, da temperatura e da pressão de oxigênio na atmosfera de armazenamento (Seaton e Pritchard, 1990, Thornhill e Koopowitz, 1992, Mello, 2000).

O uso de bancos de sementes, para conservação *ex situ* de germoplasmas de orquídeas depende de disponibilidade de conhecimentos, capazes de permitir a definição de temperaturas e graus de umidade ao armazenamento (Pritchard e Seaton, 1993; Koopowitz, 1996).

O objetivo deste estudo foi verificar o comportamento germinativo e de viabilidade de sementes de orquídeas nativas durante o armazenamento.

MATERIALE MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de

Fisiologia Vegetal do Departamento de Botânica da de Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS - Porto Alegre, RS).

Frutos com sementes de *Bifrenaria inodora* Lindl., *Cattleya bicolor* Lindl., *Cattleya intermedia* R. Grah (misturas), *Cattleya intermedia* var. *pallida* Lindl., *Cattleya labiata* Lindl., *Encyclia pygmaea* (Hook.) Dressler, *Encyclia odorantissima* Schltr., *Epidendrum fulgens* A. Brongn., *Grobya* sp. Lindl., *Laelia purpurata* Lindl. Paxt., *Laeliocattleya* Rolfe, *Maxillaria picta* Hook., *Oncidium enderianum* Hort., *Oncidium flexuosum* Sims, *Oncidium pumilum* Lindl. *Pleurothallis glumacea* Lindl. foram coletados nas regiões leste e litoral norte do Rio Grande do Sul (Tabela 1).

As superfícies dos frutos (cápsulas fechadas pré-deiscentes) foram lavadas com água e detergente neutro, recebendo posteriormente, limpeza com álcool (70%). A seguir, as cápsulas foram colocadas em dessecadores com sílica gel até a deiscência. Após, as sementes foram isoladas e colocadas em envelopes de papel *Kraft*, mantidas nos dessecadores contendo cloreto de cálcio hexahidratado, durante 10 dias (Thompson, 1980; Seaton e Pritchard, 1990).

A viabilidade foi avaliada pelos testes de tetrazólio e teste de germinação. No teste de tetrazólio, as sementes previamente embebidas durante 24 horas em água destilada, foram imersas em solução aquosa (1%) de sal de tetrazólio (cloreto de 2,3,5 trifenil tetrazólio) e mantidas na ausência de luz a 30°C, durante 24 horas (Singh, 1981; Jordão et al., 1988). A contagem foi realizada ao microscópio estereoscópico, considerando-se viáveis as sementes portadoras de embriões coloridos de

TABELA 1. Procedências e épocas de coleta dos frutos das orquídeas estudadas

Espécies	Procedências ^a	Épocas de coleta dos frutos ^b
<i>Bifrenaria inodora</i> Lindl.	Terra de Areia	Mai/99
<i>Cattleya bicolor</i> Lindl.	Terra de Areia	Fevereiro/99
<i>Cattleya intermedia</i> var. <i>pallida</i> Lindl.	Terra de Areia	Abril/99
<i>Cattleya intermedia</i> R. Grah.	Montenegro	Mai/00
<i>Cattleya labiata</i> Lindl.	Terra de Areia	Fevereiro/99
<i>Encyclia odorantissima</i> Hook	Terra de Areia	Agosto/99
<i>Encyclia pygmaea</i> Hook.	Terra de Areia	Março/99
<i>Epidendrum fulgens</i> A. Brongn	Viamão	Agosto/00
<i>Grobya</i> sp. R. Br.	São Leopoldo	Novembro/99
<i>Laelia purpurata</i> Lidl. Paxt	Terra de Areia, Montenegro	Agosto-Outubro/99; Abril/00
<i>Laeliocattleya</i> Rolfe	Terra de Areia	Outubro/98
<i>Maxillaria picta</i> Hook.	Viamão	Agosto/99
<i>Oncidium pumilum</i> Lindl.	Terra de Areia	Março/99
<i>Oncidium enderianum</i> Hort	Terra de Areia	Agosto/99
<i>Oncidium flexuosum</i> Sims	Terra de Areia	Abril/00
<i>Pleurothallis glumacea</i> Lindl.	Viamão	Março/00

^a – Municípios na Depressão Central ou Litoral-norte do Estado de Rio Grande do Sul

^b (-) Testes não efetuados.

vermelho (Lauzer et al., 1994).

O teste de germinação foi realizado em meio Knudson C (Knudson, 1946) adicionado de micronutrientes (Arditti et al., 1982) e suplementado com de tiamina (0,05mg.L⁻¹), de ácido nicotínico (0,05mg.L⁻¹), de sacarose (20g.L⁻¹) e de agar (6g.L⁻¹) com o pH do meio com NaOH para 5,7. O substrato, recoberto com filme de alumínio em camada dupla, foi autoclavado a 120°C por 20 minutos e colocado em tubos de ensaio (10mL por tubo de 20x1,5cm) que foram inclinados, ainda quentes, permitindo incrementar a superfície de semeadura.

Previamente à semeadura, as sementes foram desinfestadas com gás formol por uma hora (Alvarez-Pardo et al., 2001), em câmara de fluxo laminar. Depois, o material foi transferido para sala de crescimento à temperatura de 25+5°C com fotoperíodo de 16 horas (luz branca de 30µmol.m⁻².s⁻¹), por 30 dias. Após, as sementes foram examinadas ao microscópio estereoscópico e aquelas que apresentavam embriões expandidos e massa celular de coloração verde (estágio 1) foram consideradas germinadas, segundo as definições de Seaton e Hailes (1989) e Milaneze (1997).

Ensaio 1. Armazenamento de sementes a 5°C.

As sementes das 16 espécies de orquídeas foram armazenadas até 42 meses com um teor de água próximo de 6% (Pritchard e Seaton, 1993), em tubos de polipropileno (capacidade 1,5mL) contendo fibras de algodão no espaço não ocupado pelas sementes. Os tubos foram colocados dentro de frascos herméticos de vidro (20mL) e mantidos a 5+1°C.

A viabilidade expressada em porcentagem foi verificada semestralmente, empregando-se os testes de tetrazólio e germinação, ambos realizados com quatro repetições de 10mg de sementes por espécie. Estudo de Correlação foram realizados com as médias das repetições entre os testes de

viabilidade, usando-se o programa estatístico SSPS-10.

Ensaio 2. Condições de armazenamento das sementes de *Cattleya intermedia*

As sementes de *Cattleya intermedia*, obtidas pela reunião de amostras provenientes de duas regiões do estado do Rio Grande do Sul, apresentaram teor de água inicial de 6%, segundo a metodologia descrita por Pritchard e Seaton (1993).

As sementes armazenadas durante 24 meses, nas condições indicadas na Tabela 2, foram semestralmente avaliadas pelos testes de tetrazólio e de germinação, ambos realizados com três repetições e expressos em porcentagem. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial de 6 x 5 (condições de armazenamento x períodos de armazenamento). Os dados em porcentagem foram transformados em $\arcsen(x + 10)^{1/2}$, submetidos à análise de variância e realizado o teste de comparação de médias por Tukey (p £ 5), com o programa estatístico SSPS-10.

Ensaio 3. Curtas interrupções nas condições de armazenamento.

Foram utilizadas sementes de *Cattleya intermedia*, que apresentaram viabilidade inicial de 99 ± 1% pelo teste de tetrazólio, armazenadas a -18°C durante 24 semanas, o qual foi semanalmente interrompido pela transferência das sementes para ambiente de laboratório (25 + 5°C), utilizando-se os seguintes procedimentos:

Tratamento A (indireto): transferência das sementes para 5°C por uma hora, seguida de permanência a 25 ± 5°C por uma hora e imediato retorno a condição de -18°C;

Tratamento B (direto): transferência para ambiente a 25 ± 5°C por uma hora e imediato retorno à condição inicial de -18°C.

As subamostras retiradas semanalmente eram avaliadas pelos testes de germinação e de tetrazólio, com três repetições e expressos em porcentagem. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado em fatorial 2 x 20 (tratamentos x

TABELA 2. Armazenamento de sementes de *Cattleya intermedia* em diferentes condições por 24 meses

Tratamentos	Acondicionamento	Temperatura(°C)
T1	tubos de polipropileno herméticos, contendo fibras de algodão no espaço não ocupado pelas sementes.	5±1
T2	tubos de polipropileno herméticos, contendo fibras de algodão no espaço não ocupado pelas sementes.	-18
T3	tubos de polipropileno hermético, contendo fibra de algodão no espaço não ocupado pelas sementes e mantidos no interior de um desseca dor.	25±5
T4	tubos de polipropileno herméticos, contendo fibras de algodão no espaço não ocupado pelas sementes.	25±5
T5	Em envelopes de papel de seda	25±5
T6	Em envelopes de papel de seda no interior de um dessecador.	25±5

momentos de transferência). Os dados em percentagem foram transformados em $\arcsen(x + 10)^{1/2}$, submetidos à análise de variância, seguido de análise de regressão (programa SSPS-10).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Obter frutos com sementes com boa qualidade fisiológica requer cuidados e atenção, não podem ser coletados muito verdes, pois as sementes podem não ter atingido a maturidade, nem colocadas em condições inadequadas como sacos plásticos fechados. Altas temperaturas pós-coleta (30°C) podem prejudicar a viabilidade das sementes, assim como coletas em casa de vegetação, onde pode haver prevalência de sementes sem embriões pela falta do polinizador

natural. As cápsulas, em geral, apresentam uma coloração amarelada antes da abertura das fendas de maturação. Entretanto, em expedições de coleta a campo, esta operação se torna difícil (Mello, 2000), preferindo-se realizar coletas unicamente de cápsulas no início da deiscência (Thompson, 1980; Pritchard e Seaton, 1993). Para completar a maturação, deve-se colocar os frutos em dessecadores com sílica gel ou cloreto de cálcio, até que ocorra uma abertura completa. É imprescindível diminuir o teor de água das sementes para depois armazená-las (Seaton e Pritchard, 1990; Pritchard et al., 1999).

Houve perda da viabilidade das sementes (Ensaio 1) com o avanço de período de armazenamento em todas espécies estudadas (Tabela 3), detectadas tanto pelo teste de germinação como de tetrazólio, que apresentaram alta correlação. Por

TABELA 3. Ensaio 1: dados obtidos nos testes de tetrazólio (TZ) e de germinação (G) de sementes de orquídeas armazenadas a 5°C durante 42 meses

Espécies	Testes	Meses									Valores de R ^a
		%	0	6	12	18	24	30	36	42	
<i>Epidendrum fulgens</i>	TZ	83	84	83	57	52	- ^b	-	-	-	0,896
	G	89	80	68	57	43	-	-	-	-	
<i>Grobya</i> sp.	TZ	94	86	83	72	73	-	-	-	-	0,876
	G	92	90	71	66	48	-	-	-	-	
<i>Cattleya Intermedia</i>	TZ	99	99	96	96	92	-	-	-	-	0,850
	G	99	98	96	95	95	-	-	-	-	
<i>Oncidium flexuosum</i>	TZ	94	93	91	88	90	-	-	-	-	0,852
	G	95	96	92	89	87	-	-	-	-	
<i>Pleurothallis glumacea</i>	TZ	100	98	48	35	36	-	-	-	-	0,982
	G	99	99	55	22	34	-	-	-	-	
<i>Oncidium enderianum</i>	TZ	100	97	91	75	63	34	-	-	-	0,998
	G	100	98	95	71	56	21	-	-	-	
<i>Maxillaria picta</i>	TZ	98	98	91	88	73	1	-	-	-	0,975
	G	94	94	82	81	49	0	-	-	-	
<i>Laelia purpurata</i>	TZ	95	94	93	77	63	41	-	-	-	0,994
	G	95	93	90	76	56	40	-	-	-	
<i>Bifrenaria inodora</i>	TZ	98	92	91	69	54	19	9	-	-	0,997
	G	100	99	92	64	49	3	0	-	-	
<i>Encyclia pygmaea</i>	TZ	100	99	96	91	91	89	84	-	-	0,995
	G	100	99	95	86	86	84	78	-	-	
<i>Oncidium pumilum</i>	TZ	99	94	88	86	86	89	75	-	-	0,929
	G	97	86	90	83	81	83	63	-	-	
<i>Cattleya iIntermedia pallida</i>	TZ	99	100	100	99	94	69	54	-	-	0,992
	G	100	100	99	100	99	70	48	-	-	
<i>Cattleya bicolor</i>	TZ	100	99	84	68	52	41	14	-	-	0,972
	G	99	99	79	68	61	20	6	-	-	
<i>Cattleya labiata</i>	TZ	63	58	29	14	9	2	0	-	-	0,996
	G	61	61	24	14	6	1	0	-	-	
<i>Encyclia odorantissima</i>	TZ	100	99	99	93	92	84	74	-	-	0,989
	G	99	99	97	91	94	82	70	-	-	
<i>Laeliocattleya</i>	TZ	100	100	100	98	100	74	72	43	-	0,990
	G	100	99	100	97	98	67	57	35	-	

^aValores de correlação entre os dados dos testes de tetrazólio e de germinação.

^b(-) Testes não efetuados.

insuficiência de material, em algumas espécies os testes foram efetuados até 24 ou 30 meses. Em outras espécies, como *Maxillaria picta* e *Cattleya labiata*, que em 30 meses, perderam quase completamente a viabilidade.

Existiu interação significativa entre as condições e os períodos de armazenamento das sementes de *C. intermédia*

(Ensaio 2). Nas condições de baixa temperatura ($T_1=5^\circ\text{C}$ ou $T_2=-18^\circ\text{C}$), as sementes dessa espécie não alteraram a viabilidade durante 24 meses de armazenamento (Figura 1A e B). Até seis meses de armazenamento T_1 , T_2 , T_3 e T_6 , mantiveram-se estatisticamente iguais (Figura 1A e B). As sementes armazenadas em condições ambientais fora do

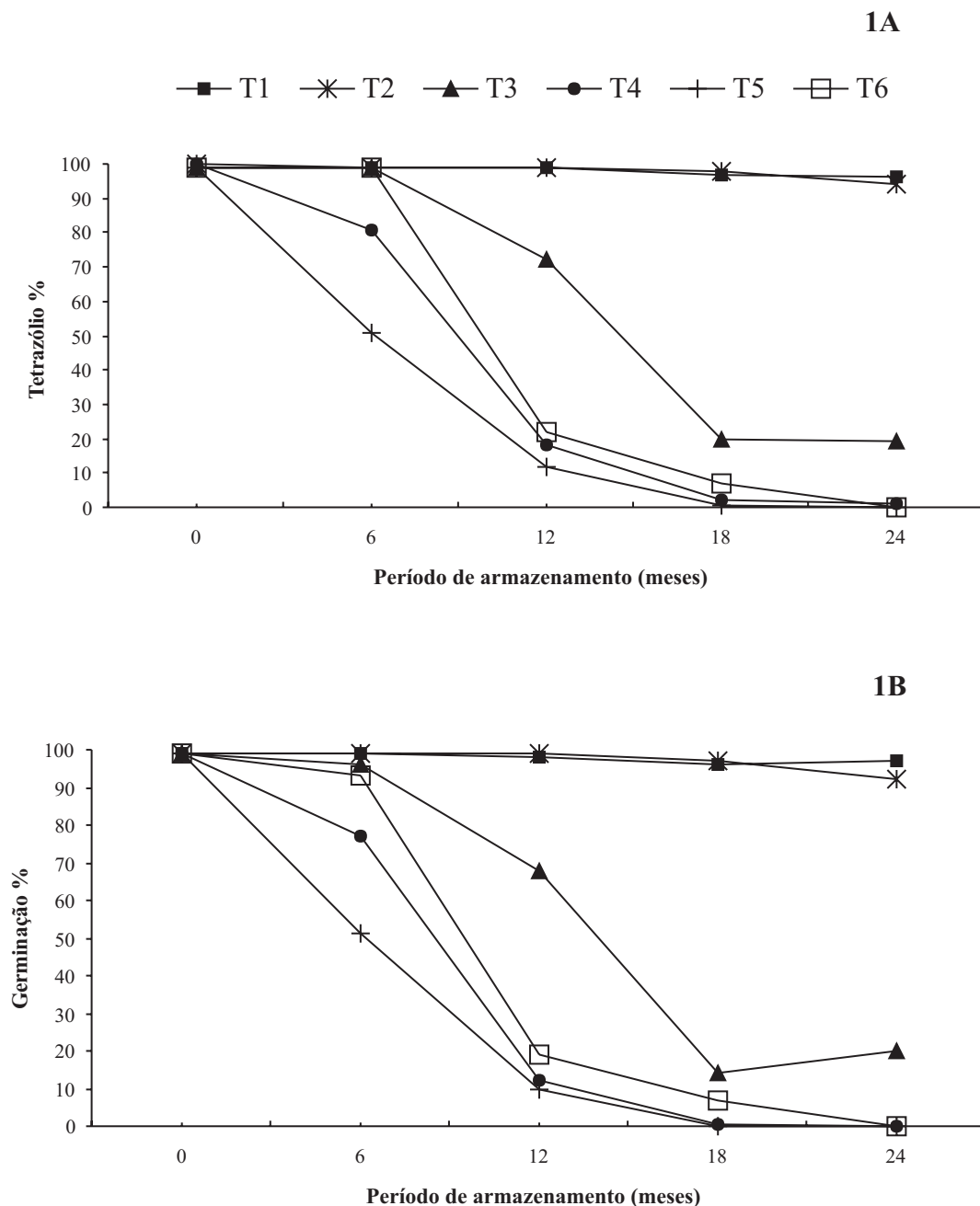


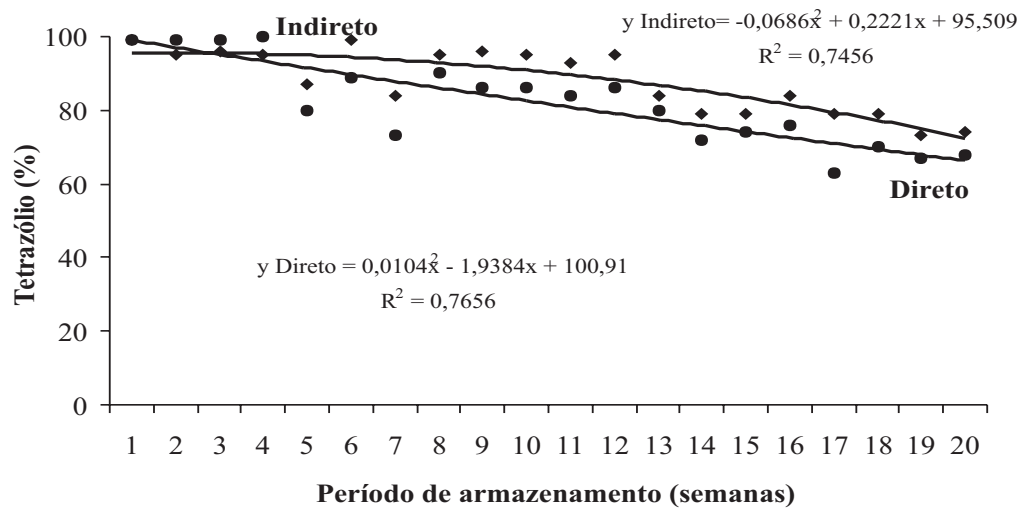
FIGURA 1. Ensaio 2: dados obtidos nos testes de tetrazólio (1A) e de germinação (1B) para as condições de armazenamento adotadas durante o armazenamento (T1=em tubos de polipropileno (1,5mL) a 5°C ; T2=em tubos a -18°C ; T3=em tubos em dessecador a 25°C ; T4=em tubos sem dessecador a 25°C ; T5=em envelope de papel de seda sem dessecador a 25°C ; T6=em envelope de papel com dessecador a 25°C) de 24 meses das sementes de *Cattleya intermedia*.

dessecador (T_4 = tubo de polipropileno e T_5 = em papel de seda) mostraram perda da viabilidade já aos seis meses de estocagem, perdendo completamente a viabilidade aos 18 meses. Efeito similar foi observado por Limartha (1975) para sementes de *Phalaenopsis amabilis* e *Dendrobium phalaenopsis*, que perderam 30% da viabilidade em 20 dias a temperatura de 25 – 28°C. Mello (2000) comprovou a perda da viabilidade de sementes de várias espécies de orquídeas do Cerrado brasileiro, armazenadas a 25°C. Assim, o controle da

temperatura e do teor de água nas sementes interfere na conservação das sementes de várias espécies de orquídeas.

Houve efeito significativo entre os períodos de armazenamento e os procedimentos de transferência (Ensaio 3), indicando que o efeito dos tratamentos dos lotes A e B estavam na dependência dos ciclos de armazenamento das sementes de *Cattleya intermedia*, a partir da quinta semana de avaliação com os métodos direto e indireto (Figura 2) Segundo o teste de tetrazólio (Figura 2A), a perda da

2A



2B

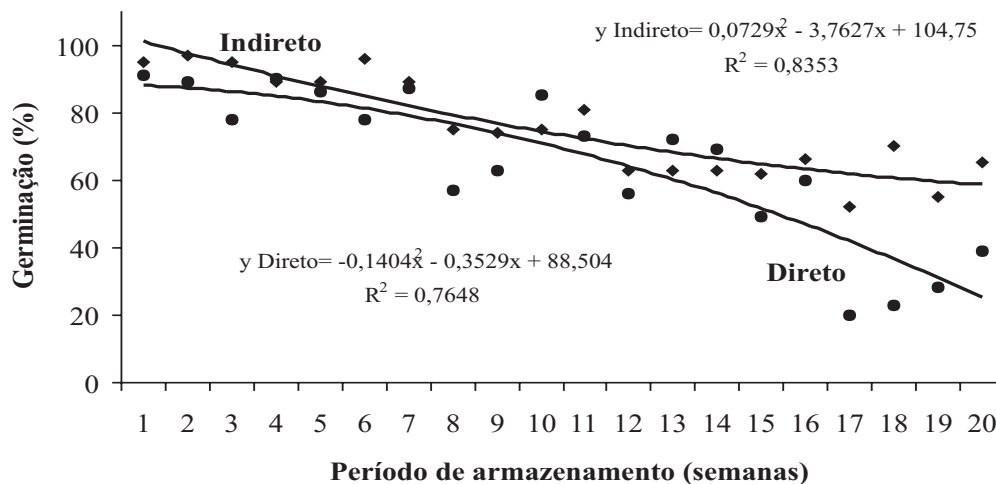


FIGURA 2. Ensaio 3: dados dos testes de tetrazólio (2A) e germinação (2B), obtidos para os tratamentos de lote direto (de -18°C para 25°C) e lote indireto (de -18°C; para 5°C; para 25°C), aplicados em sementes de *Cattleya intermedia*.

viabilidade, após os vinte ciclos avaliados, foi de 20% em ambos os lotes (indireto e direto) e de acordo com o teste de germinação (Figura 2B), perdeu-se de 30 a 50%, para estes dois lotes. Sabe-se que quanto mais frio e maior a diferença de temperatura com ambiente, maior é a condensação de umidade sobre o corpo resfriado. Assim, transferir as sementes diretamente de -18°C para a temperatura ambiente, deve condensar mais umidade sobre essas. Como foi ressaltado anteriormente, o controle da umidade relativa e do teor de água nas sementes influi na viabilidade das mesmas, e isto pode ter prejudicado na germinabilidade. Não se mediu o grau de absorção de água pelas sementes após as transferências. Desta forma, se houver necessidade de várias subamostras de sementes ao longo do tempo, na estocagem inicial, deve-se dividir o material e as sobras não devem voltar para as condições de baixas temperaturas de armazenamento (5°C ou -18°C).

CONCLUSÕES

Há perda da viabilidade das sementes conforme aumenta o período de armazenamento, nas dezesseis espécies estudadas.

A conservação de sementes de *Cattleya intermedia* é favorecida por temperaturas ambientais de 5 e -18°C.

Há perda de viabilidade com as mudanças de temperatura de -18°C para 25°C nos lotes A (indireto) e B (direto) de sementes de *C. intermedia*, ao final dos vinte ciclos de armazenamento. O método indireto mostrou menor perda de viabilidade ao longo dos vinte ciclos analisados.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ-PARDO, V.; SOUZA, F.L. FERREIRA, A.G. Desinfestação de sementes de orquídeas. In: CONGRESSO NACIONAL DE FISILOGIA VEGETAL, 2001, Ilhéus. **Anais...** Ilhéus: SBFV, 2001. CD-ROM.

ARDITTI, J.; CLEMENTS, G.; FAST, G.; HADLEY, G.; NISHIMURA, G.; ERNST, R. Orchid seed germination and seedling culture – A manual. In: ARDITTI, J. (Ed.) **Orchid biology: reviews and perspectives II**. New York: Cornell University Press. 1982. p. 244-370.

JESUP, A.L. *Ex situ* conservation. In: HÁGSATER E.; DUMONT, V. (Eds.) **Orchids**. Cambridge: IUCN Publications Service Unit. 1996, p. 23-27.

JORDÃO, L.R.; LOPES, V.B.; TAKAKI, M.. Selection of viable

seeds in *Hormidium coriaceum* Ldl. (Orchidaceae) by density separation. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.16, p. 515-19. 1988.

KNUDSON, L. A new nutrient solution for the germination of orchid seed. **American Orchid Society Bulletin**, West Palm Beach, v.15, p. 214-17, 1946.

KOPOWITZ, H. Propagation for genetic diversity. In: HÁGSATER, E.; DUMONT, V. (Ed.) **Orchids**. Cambridge: IUCN Publications Service Unit, 1996. p. 27-32.

LAUZER, D.; ST-ARNAUD, M.; BARABÉ, D. Tetrazolium staining and in vitro germination of mature seeds of *Cypripedium acaule* (Orchidaceae). **Lindleyana**, Palm Beach, v.9, n.3, p. 197-204, 1994.

LIMARTHA, I. Influence of media and seed storage time on orchid germination. **Hawaii Orchid Journal**, v. 4, p.6-8, 1975.

MELLO, C.M.C. **Conservação de sementes de orquídeas do Cerrado**. 2000, 48 p. Dissertação (Mestrado em Biologia). - Universidade de Brasília, Brasília, 2000.

MILANEZE, M.A. **Estudos em orquídeas nativas do Brasil. Morfologia de sementes e cultivo assimbiótico**. 1997, 241f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1997.

PRITCHARD, H.W.; PREDERGAST, F.G. Factors influencing the germination and storage characteristics of orchid pollen. In: PRITCHARD, H.W. (Ed.) **Modern methods in orchid conservation: the role of physiology, ecology and management**. Cambridge: University Press, 1989. p.1-16.

PRITCHARD, H.W.; SEATON, P.T. Orchids seed storage: Historical perspective current status and future prospects for long-term conservation. **Selbyana**, Sarasota, v.14, p. 89-104. 1993.

PRITCHARD, H.W.; POINTER, L.C.A.; SEATON, T.P. Interspecific variation in orchid seed longevity in relation to ultra-dry storage and cryopreservation. **Lindleyana**, Palm Beach, v.14, n. 2, p. 92-101, 1999.

SEATON, P.; PRITCHARD, H. The do's and don't's of orchid seed storage. **The Orchid Review**, v. 98, p. 172-74, 1990.

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

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

THOMPSON, P.A. **Orchids from seed**. London: RBGK/McCorquodale Printer Ltd, 1980. 29 p.

THORNHILL, A.; KOPOWITZ, H. Viability of *Disa uniflora* (Orchidaceae) seeds under variable storage conditions: is orchid gene-banking possible?. **Biological Conservation**, Essex, v.1, p. 21-27, 1992.

