



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANA CAROLINA SOBREIRA SOARES

ENCAPSULAMENTO DE PLANTAS: SEMENTES SINTÉTICAS EM ORQUÍDEAS

AREIA

2022

ANA CAROLINA SOBREIRA SOARES

ENCAPSULAMENTO DE PLANTAS: SEMENTES SINTÉTICAS EM ORQUÍDEAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador (a): Prof^ª. Dra. Núbia Pereira da Costa

AREIA

2022

**Catálogo na publicação Seção de
Catálogo e Classificação**

S676e Soares, Ana Carolina Sobreira.

Encapsulamento de plantas: sementes sintéticas em orquídeas / Ana Carolina Sobreira Soares. - Areia:s.n,2022.
34 f; il.

Orientação: Núbia Pereira da Costa. TCC
(Graduação) - UFPB/CCA.

1. Ciências Biológicas. 2. Biotecnologia. 3. Cultura de tecidos. 4. Plantas ornamentais. I. Costa, Núbia Pereira da. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 573(02)

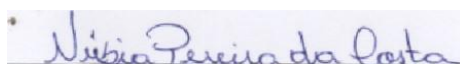
ANA CAROLINA SOBREIRA SOARES

ENCAPSULAMENTO DE PLANTAS: SEMENTES SINTÉTICAS EM ORQUÍDEAS

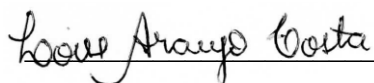
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal da Paraíba, como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 05/12/2022.

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Núbia Pereira da Costa (Orientadora)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Profa. Dra. Loise Araujo Costa (Examinadora)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Me. Khyson Gomes Abreu (Examinador)
Doutorando em Agronomia (UFPB)

Acima de tudo esse trabalho é dedicado a Deus, o Pai e Criador. Ele é causa primordial de todas as coisas.

Dedico também a minha querida mãe, por ter sonhado comigo, ser minha base e meu consolo ao longo de toda a minha trajetória.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter encaminhado todos os meus passos até aqui e permitido que eu alcançasse essa realização. Por ser minha provisão, meu acalento, meu cuidador e meu Senhor por toda a vida. Para tanto, dedico a Ele todas as honras e glórias.

À minha mãe por ser minha maior incentivadora, por ter sonhado comigo todos esses anos, sendo paciente, aconselhando, sendo meu lar, mesmo que a quilômetros de distância. Ela é minha inspiração, meu espelho, a quem eu mais amo e admiro, e quero retribuir todo esforço e doação ao enfrentar dias exaustivos com uma dupla jornada de trabalho para apoiar minha graduação.

Ao meu pai pelo cuidado e incentivo, sempre enfatizando o quão orgulhoso é pela filha que estuda na Paraíba e o quanto somos parecidos, no jeito, na agonia e na coragem em encarar os desafios.

À minha querida orientadora, Prof^a Dr^a Núbia Pereira da Costa, à qual expresso minha profunda gratidão por todo apoio prestado a mim durante este último ano, por ter somado ao meu crescimento pessoal e acadêmico que me acompanharão por toda a vida, como também, me apoiando e depositando em mim sua confiança para atuar no projeto de extensão de hortas nas escolas, trabalho este que muito me enriqueceu como pessoa.

Ao meu colega de laboratório José Flávio A. Alves e o técnico Cosmo Ribeiro Dantas que me prestaram todo apoio durante a vivência no LABCULTIVE e no projeto de extensão, somando ao meu conhecimento e me tirando boas risadas.

À minha amada vó Glória, Glorinha (in memoriam), a quem hoje resguardo minha saudade e o desejo de tê-la aqui vivenciando esse momento.

À Amanda Fernandes, minha prima e a pioneira da família em ir morar em outro estado para estudar, sou grata por sua paciência, conselhos, aprendizados e companheirismo nessa vivência como paulistas em terras paraibanas, terras as quais nos apaixonamos pela cultura, sotaque, pessoas amáveis, quentura e culinária. Às minhas tias queridas, Marlene e Zilma, por todo cuidado e preocupação ao longo desses anos.

Ao casal Angelo e Osvaldina, que desde muito nova tem creditado afeto a mim, demonstrando cuidado e me abençoando, tanto financeiramente quanto espiritualmente, permitindo que, junto aos meus pais, eu tenha condições de estar aqui hoje.

À Janaina Luíza, minha melhor amiga, que se fez presente mesmo com a distância ao longo do curso, me apoiando, consolando e fortalecendo nos momentos difíceis, como

também me alegrando nos bate-papos sobre a vida, conseguindo me aproximar um pouco do meu mundinho paulistano e assim, amenizar a saudade constante de casa.

Às minhas amigas-irmãs Millena Araújo, Emily Mirlene e Ellen Vitória, que são de longe meu maior presente da graduação. Sou grata pelo acolhimento desde o primeiro dia que nos conhecemos, por serem minha família aqui na Paraíba durante todo o curso, por todos os choros e sorrisos juntas, pela força e apoio em literalmente todos os sentidos. Sou grata também pela família de cada uma delas, que me abraçaram e permitiram que eu nunca me sentisse só. Saibam que vocês foram e continuarão sendo essenciais em minha vida.

À minha parceira de turma e muito amiga Andrezza Maddalena, que me rendeu e ainda rende muitas risadas com sua alegria e jeito leve de levar a vida. Sou muito feliz por nossa amizade, por todas as trocas e ajudas durante o curso e resalto que estou muito orgulhosa de quem você está se tornando. À Hayla e Rhadija, obrigada por todos os momentos que vivemos juntas durante esse último ano, Hayla com sua risada e alegria contagiante, e Rhadija com sua personalidade cativante que me renderá muita saudade.

Ao Lucas Medeiros, sua amizade e apoio na reta final do curso foi um presente inesperado, sou muito grata por todo suporte e carinho nesses últimos meses. Ao Silvio, João Victor e Murilo, amigos que proporcionaram muitos momentos bons e lembranças de dias felizes. À Victória, minha primeira colega de apartamento, que me apresentou a charmosa cidade de Areia e tornou meus primeiros meses de adaptação ao novo endereço muito mais fáceis e divertidos. Além disso, me apresentou a Dona Socorro, uma senhora muito amável, que me alegra por demais e da qual sentirei muitas saudades.

Ao professor do primeiro ano do ensino médio Flávio Cordeiro, por sua paciência e dedicação ao lecionar, contribuindo para que eu esteja me graduando hoje. À professora Riselane de Alcântara e ao Erifraklin Santos, que me ensinaram os princípios da escrita acadêmica, me proporcionaram muito aprendizado durante os dois anos de PIBIC e ainda, me incentivaram com suas palavras e exemplo a sempre ir além da média e focar na excelência,

Por fim, à Universidade Federal da Paraíba, em especial ao Centro de Ciências Agrárias, a instituição sede da minha graduação, que me ofertou oportunidades incríveis, tanto no que diz respeito a ter tido acesso a um aprendizado de alta qualidade através do corpo docente, quanto às oportunidades de bolsas através dos programas de PIBIC e EXTENSÃO.

“Muita coisa que ontem parecia importante ou significativa amanhã virará pó no filtro da memória. Mas o sorriso (...) ah, esse resistirá a todas as ciladas do tempo.”

Caio Fernando de Abreu

RESUMO

A família Orchidaceae é conhecida por suas espécies possuírem belíssimas flores e por sua importância econômica entre as plantas ornamentais. Contudo, apesar das milhares de sementes contidas em cada cápsula (fruto) produzido, a propagação convencional de orquídeas é reduzida devido à falta de endosperma, ou seja, pouca reserva nutritiva, que é suprida na natureza com a presença de fungos micorrízicos, estabelecendo uma relação simbiótica. As sementes sintéticas surgem como uma alternativa para superar essa barreira fisiológica. Assim, o presente trabalho teve por objetivo realizar uma revisão bibliográfica referente à utilização do método de encapsulamento na produção de sementes sintéticas em espécies da família Orchidaceae, além desse aspecto, buscou-se identificar quais outras possíveis aplicações no segmento de propagação e também da conservação de espécies. As informações foram coletadas em três bases de dados bibliográficos — Web of Science, Scielo e Science Direct. De acordo com os dados obtidos, as aplicações da técnica de encapsulamento abrangem os segmentos de propagação em massa de plantas, beneficiando o a cadeia de produção, permitindo o transporte de germoplasma entre laboratórios, armazenamento a curto e médio prazo, multiplicação clonal e manutenção da estabilidade genética; também é uma ferramenta importante para a conservação de espécies de orquídeas ameaçadas de extinção.

Palavras-chave: biotecnologia; cultura de tecidos; plantas ornamentais.

ABSTRACT

The Orchidaceae family is known for your species having beautiful flowers and for its economic importance among ornamental plants. However, although the thousands of seeds contained in each capsule (fruit) produced, the conventional propagation of orchids is reduced due to the lack of endosperm, that is, little nutritional reserve, which is supplied in nature with the presence of mycorrhizal fungi, establishing a symbiotic relationship. Synthetic seeds emerge as an alternative to overcome this physiological barrier. Thus, the present work aimed to carry out a bibliographic review regarding the use of the encapsulation method in the production of synthetic seeds in species of the Ochidaceae family. The informations was collected from three bibliographic databases — Web of Science, Scielo and Science Direct. According to the data obtained, the applications of the encapsulation technique cover the segments of mass propagation of plants, benefiting the production chain, allowing the transport of germplasm between laboratories, short and medium term storage, clonal multiplication and stability maintenance genetics, it is also an important tool for the conservation of endangered orchid species.

Keywords: biotechnology; tissue culture; ornamental plants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

Figura 1 -	Diversidade florística das espécies encontradas no estado do Espírito Santo, Brasil.	14
Figura 2	Morfologia da flor da Família Orchidaceae.	15
Figura 3 -	Fotografias da sementes de <i>Cephalanthera damasonium</i> obtidas a partir de microscopia eletrônica.	16
Figura 4 -	Aspecto da matriz de encapsulamento de sementes sintéticas <i>in vitro</i> de <i>Solanum tuberosum</i> (Batata).	18

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AV - *Aranda* Wan Chark Kuan 'Blue' × *Vanda coerulea* Griffth. ex. Lindl.

IUCN - International Union for Conservation of Nature

PBL - “protocorm-like bodies” - são corpos semelhantes à protocormos

CITES16 - Convenção sobre o Comércio Internacional de Espécies Ameaçadas da Fauna e Flora Silvestres

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. CONTEXTO TEÓRICO	13
2.1. Família Orchidaceae.....	13
2.2. Sementes de orquídeas	15
2.3. Semente sintética.....	16
2.4. Técnica e aplicações da semente sintética	17
2.5. Conversão da semente sintética em plântula	19
3. METODOLOGIA.....	20
4. ANÁLISE E RESULTADOS.....	20
4.1. Aplicações no setor produtivo	20
4.2. Aplicações na conservação de germoplasma.....	23
4.3. Dificuldades na obtenção de sementes sintéticas.....	25
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	26
6. REFERÊNCIAS	27

1. INTRODUÇÃO

A micropropagação de plantas é uma das áreas da biotecnologia vegetal que mais se destaca devido a sua importância comercial através da utilização de técnicas que viabilizam a propagação clonal de mudas, controle das condições ambientais e regeneração de plantas *in vitro*, além da possibilidade de preservação de espécies comerciáveis e das que estão sob o risco de extinção (MANGENA, 2021).

Uma das técnicas com grande potencial de aplicação é a produção de sementes sintéticas formadas a partir do encapsulamento de embriões somáticos envoltos em tegumentos artificiais que são compostos por uma camada gelificante e resultam em sementes análogas às sementes naturais (BASKARAN; KUMARI; VAN STADEN, 2015). Após o processo de conversão em planta, o vegetal retoma o seu desenvolvimento para alcançar o estágio de plântula e gradativamente se tornar uma planta adulta. Da mesma forma como em sementes naturais, as sintéticas podem ser germinadas tanto em cultivo *in vitro* quanto no solo de ambientes externos, facilitando a produção em grande escala de mudas comerciais com um baixo custo e ainda, promovendo a possibilidade de estender o período de viabilidade das sementes ao longo do armazenamento (GHOSH; SEN, 1994).

Entre os grupos de vegetais, especificamente o das Angiospermas, uma família de grande relevância econômica e que enfrenta adversidades relacionadas ao armazenamento de suas sementes é a Orchidaceae, sendo ela, segundo QI et al. (2021) a maior em quantidade de espécies dentro desse grupo com cerca de 775 gêneros e 24.500 espécies inclusas. Seus representantes estão distribuídos por todo o globo, exceto em desertos e geleiras, e com presença mais diversa e marcante nos trópicos, em particular, em regiões montanhosas (PÉREZ-ESCOBAR, et al., 2017; ŚLIWIŃSKI et al., 2022).

As orquídeas no Brasil e no mundo apresentam uma grande importância no setor comercial de plantas ornamentais, devido a grande variedade de cores, tamanhos e exuberância das flores (SCHOENMAKER, 2017). De acordo com Mezzalira e Kuhn (2019) elas estão presentes também na indústria cosmética para fabricação de cremes, sabonete, perfumaria, e outros; e por fim, são utilizadas na medicina natural devido às propriedades medicinais dos óleos e extratos vegetais oriundos de determinadas espécies.

De maneira geral, as sementes das espécies de Orchidaceae são diminutas e contém pouquíssimo tecido de reserva armazenado, exigindo que na natureza elas se associem a fungos micorrizicos para viabilizar a germinação e o desenvolvimento da plântula, bem como

a colonização e distribuição territorial das mesmas (DEARNALEY, 2007). Assim, essa característica fisiológica é um dos alvos de estudos da biotecnologia vegetal utilizando técnicas como o encapsulamento e produção de sementes sintéticas. Essa ferramenta visa contornar a dependência associativa aos fungos, permitir a produção em larga escala de mudas, possibilitar o armazenamento para a semeadura escalonada, como também para fins de conservação em bancos de germoplasma.

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo fazer uma revisão bibliográfica referente à utilização de encapsulamento na produção de sementes sintéticas e suas aplicações na propagação e conservação de espécies da família Orchidaceae.

2. CONTEXTO TEÓRICO

2.1. Família Orchidaceae

A família Orchidaceae pertence à ordem monofilética dos Asparagales, compõe o grupo das monocotiledôneas das Angiospermas e o nome da família vem da palavra 'orquídeas' no grego e significa testículo, em decorrência do formato dos tubérculos que se assemelham aos testículos da anatomia animal (SUT; MAGGI; DALL'ACQUA, 2017).

Os gêneros mais abundantes e tidos como os principais desta família são *Pleurothallis* (1120 espécies), *Bulbophyllum* (1000), *Dendrobium* (900), *Epidendrum* (800), *Habenaria* (600), *Eria* (500), *Lepanthes* (460), *Maxillaria* (420), *Oncidium* (420), *Masdevallia* (380), *Stelis* (370), *Liparis* (350), *Malaxis* (300), *Oberonia* (300), *Encyclia* (235), *Eulophia* (200), *Angraecum* (200), *Taeniophyllum* (170), *Phreatia* (160), *Polystachya* (150), *Calanthe* (150), *Vanilla* (100) e *Catasetum* (100), caracterizando-a como uma das maiores famílias do planeta (DRESSLER, 1981).

No que diz respeito à distribuição, trata-se de uma família cosmopolita, presente em todos os continentes, com exceção da Antártica (POWO, 2022). No Brasil, as maiores abundâncias e riqueza de espécies são encontradas nos ecossistemas da Mata Atlântica (150 gêneros e 1388 espécies) e na Bacia Amazônica (135 gêneros e 785 espécies), contudo, ainda há uma carência com relação ao volume de coleções desses materiais quando comparado à densidade populacional do grupo (ZAPPI et al., 2015; BRASIL, 2022).

Com relação ao hábito, as orquídeas em geral são epífitas que vivem em troncos e galhos de árvores, há também as parasitárias e saprofíticas. Existe uma grande pluralidade de forma das flores como exemplificado pela Figura 1 (KRAHL; COGO; VALSKO, 2014), que

garantem a visita de diferentes polinizadores e, segundo especialistas, isto está relacionado ao sucesso de sua colonização intercontinental (FREUDENSTEIN; RASMUSSEN, 1999).

Figura 1 – Diversidade florística das espécies encontradas no estado do Espírito Santo, Brasil.
a. *Acianthera capillaris*. b. *Acianthera nemorosa*. c. *Aspidogyne argentea*. d. *Aspidogyne mendoncae*. e. *Brasiliorchis consanguinea*. f. *Christensonella pumila*. g. *Cirrhaea dependens*. h. *Eltroplectris janeirensis*. i. *Eltroplectris triloba*. j. *Epidendrum avicula*. k. *Epidendrum hololeucum*. l. *Grandiphyllum auricula*. m. *Lockhartia lunifera*. n. *Mormolyca rufescens*. o. *Octomeria juncifolia*. p. *Octomeria tricolor*. q. *Oeceoclades maculata*. r. *Pabstiella hians*. s. *Pabstiella trifida*. t. *Prescottia plantaginifolia*. u. *Specklinia marginalis*. v. *Stanhopea guttulata*. x. *Stelis papaquerensis*. z. *Wulfschlaegelia aphylla*. w. *Xylobium variegatum*.



Fonte: (KRAHL; COGO; VALSKO, 2014).

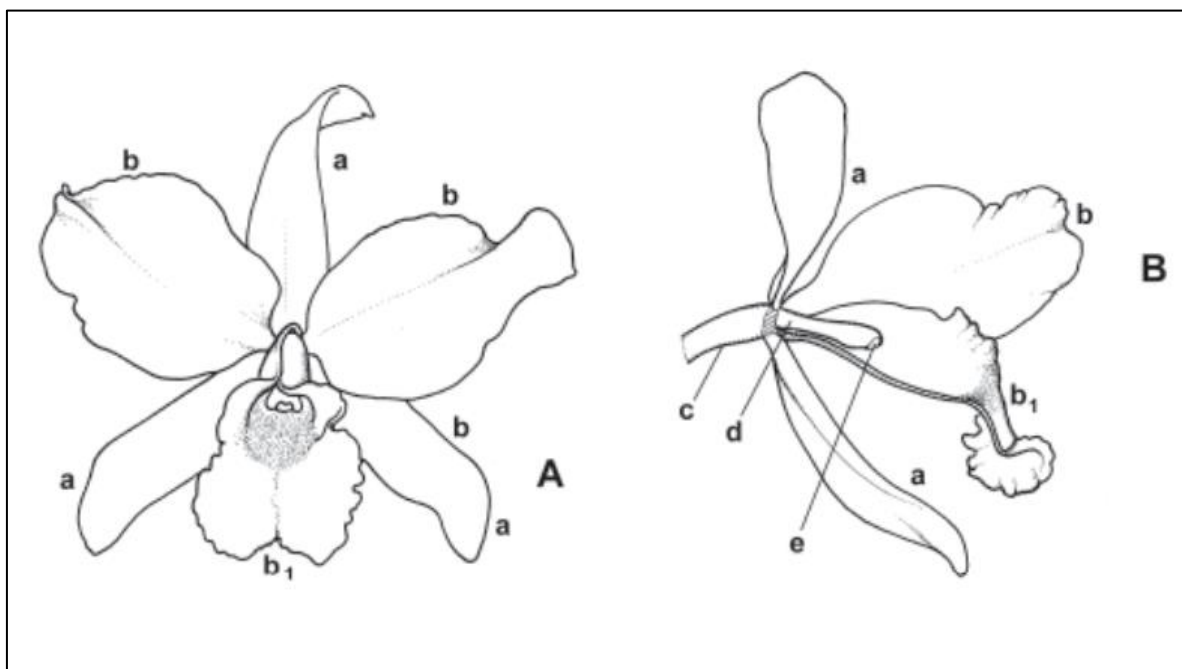
A morfologia é comumente caracterizada pela presença de caules simples e não ramificados, a ramificação subterrânea é formada por rizomas ou raízes fibrosas, as folhas apresentam nervuras paralelas ou os gêneros mais basais formam estruturas de rosetas e os frutos são em forma de cápsula seca deiscente (DAHLGREN; CLIFFORD; YEO, 1984).

Por fim, a grande diversidade florística se deve à variação da aparência de uma das tépelas ou também chamadas de pétalas (modificada em labelo) do verticilo interior frente às demais e é marcante para diferenciação em nível de gênero. A morfologia da flor, descrita na Figura 2 (SILVA; SILVA, 2010), é irregular, zigomórfica, com simetria bilateral, o verticilo

exterior tem três sépalas e o interior tem três pétalas, normalmente contém os órgãos masculinos (anteras) e femininos (estigmas) numa estrutura central da flor chamada coluna (ŚLIWIŃSKI et al., 2022).

Figura 15 – Morfologia da flor da Família Orchidaceae.

A. Flor completa: a) sépala; b) pétala; b₁) labelo; B. Corte longitudinal mostrando as peças florais: a) sépala; b) pétala; b₁) labelo; c) ovário (pedicelo); d) coluna; e) polinário.



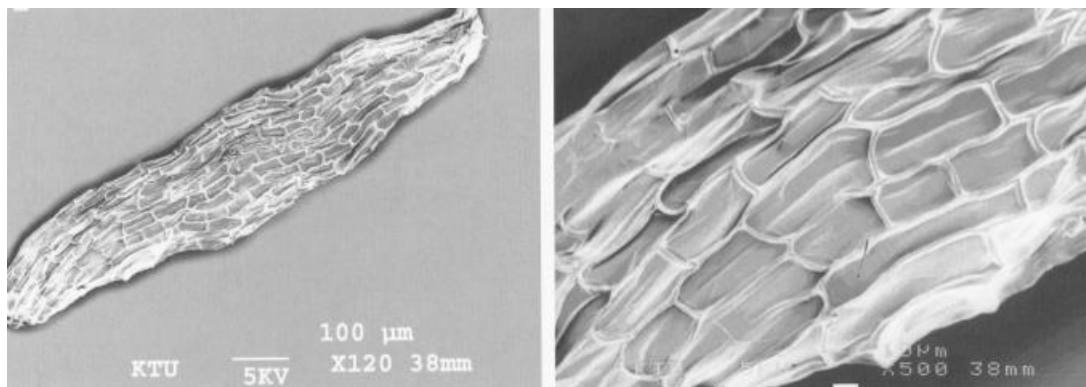
Fonte: (SILVA; SILVA, 2010).

2.2. Sementes de orquídeas

As sementes de orquídeas destoam de outras sementes devido seu tamanho diminuto (0,18–3,80 mm de comprimento), sendo conhecidas por sementes de poeira, isso porque cada cápsula ou fruto abriga milhares sementes e estas são adaptadas a dispersão pelo vento (ERIKSSON; KAINULAINEN, 2011).

Uma característica importante é a falta de endosperma, ou seja, pouca reserva nutritiva. Além disso, cada semente contém um embrião indiferenciado, há a presença de espaços de ar, como é possível visualizar na Figura 3 (AKÇIN; OZDENER; AKÇIN, 2009), e ela é recoberta por uma fina camada que facilitam a dispersão para longas distâncias (ARDITTI; GHANI, 2000).

Figura 3 – Fotografias da sementes de *Cephalanthera damasonium* obtidas a partir de microscopia eletrônica.



Fonte: (AKÇIN; OZDENER; AKÇIN, 2009)

Como dito acima, a falta de endosperma faz com o que haja uma carência nutritiva que é suprida com a presença de fungos micorrízicos, principalmente do Filo Basidiomycota. Estes, associados às raízes da planta constituem as interações simbióticas chamadas de micorrizas, elas são responsáveis por disponibilizar água, vitaminas, nutrientes, minerais e carbono necessários à germinação e desenvolvimento da planta (HERRERA et al, 2019).

Dessa forma, essa interação implica em fatores ecológicos decisivos, principalmente no que se refere ao sucesso da colonização e diversificação das orquídeas em diferentes habitats (OTERO; FLANAGAN, 2005).

Diferentemente de outras associações planta-fungo, a dependência da orquídea em relação ao fungo, essencialmente no estágio de germinação e formação do protocormo, é única, já que se trata praticamente de uma relação unilateral benéfica a planta, fornecendo crucialmente o carbono necessário à sua sobrevivência (PECORARO et al., 2017).

Portanto, a germinação de sementes naturais só ocorre através desta relação simbiótica, tratando-se de uma importante barreira fisiológica a ser superada para a propagação em massa dos gêneros dessa família (SUT et al., 2017).

2.3. Semente sintética

O conceito de semente sintética foi proposto por Murashige (1977) e Murashige, (1978) e é definido originalmente pela utilização de embriões somáticos que são encapsulados de maneira artificial em matrizes gelificantes para servirem como sementes sintéticas aptas à semeadura.

Tais embriões somáticos são derivados de diferentes tecidos e órgãos da planta. Dessa forma, baseando-se na totipotência das células meristemáticas vegetais, é possível induzir

embriões secundários de explantes oriundos de gemas apicais, extremidade de brotos e tecidos zigóticos (RAVI; ANAND, 2012).

Ao longo dos anos, o conceito se estendeu para propágulos vegetativos não embriogênicos, como segmentos nodais, calos organogênicos e corpos semelhantes a protocormos, dando uma ênfase maior às possibilidades quanto ao armazenamento, semeadura e produção de plântula a partir dessa técnica (SHARMA; SHAHZAD; SILVA, 2013).

Contudo, de acordo com Gray, Purohit e Triglano (1991), o encapsulamento da semente sintética é opcional e irá depender da sua aplicação, como por exemplo, embriões somáticos quiescentes, onerosos à micropopulação são candidatos à germinação sem proteção, já os não quiescentes são passíveis do encapsulamento por viabilizar a conservação durante o armazenamento.

Trata-se de uma das possibilidades de aplicação da biotecnologia vegetal, especificamente utilizando os conhecimentos voltados à cultura de tecidos, apresentando, sobretudo, grande potencial de aplicação comercial devido à capacidade de produção de mudas em larga escala.

Para isso, a semente sintética necessita ter a capacidade de sofrer conversão em planta novamente, e assim, desenvolver-se para formar um indivíduo adulto, tanto em condições *in vitro* quanto *ex vitro* após o período de armazenamento (ARA; JAISWAL; JAISWAL, 2000).

2.4. Técnica e aplicações da semente sintética

A técnica de produção de sementes artificiais e encapsulamento é antecedida pela indução do embrião somático em meio de cultura ou germinação *in vitro* de sementes convencionais para posterior encapsulamento dos protocormos gerados. Em seguida, os embriões são encapsulados individualmente utilizando um material gelificante que somado a outros componentes constitui a matriz de encapsulamento, como mostra a Figura 4 (VARGAS et al., 2014). A depender da aplicação, essas sementes artificiais são armazenadas a curto ou médio prazo em condições específicas para cada espécie ou gênero, e posteriormente, são convertidas em plântula novamente (HAQUE; GHOSH, 2017).

Figura 4 – Aspecto da matriz de encapsulamento de sementes sintéticas *in vitro* de *Solanum tuberosum* (Batata).



Fonte: (VARGAS et al., 2014).

As sementes artificiais ou sintéticas têm sido utilizadas para propagação de diferentes espécies desde que essa técnica foi desenvolvida. Isso porque, o seu baixo custo de produção e fácil manuseio, permitem que ela seja capaz de substituir outras técnicas mais tradicionais dentro da biotecnologia vegetal que fazem uso de sementes naturais, híbridas ou mesmo estaquia (MANGENA, 2021).

A cápsula que envolve o explante realiza o papel do endosperma de uma semente natural, propiciando nutrição e regulando o crescimento, como também, confere proteção contra danos mecânicos feito o tegumento, mas de modo artificial (MALABADI; STADEN, 2005).

Em relação à composição da matriz de encapsulamento, muitos materiais em gel já foram testados para encontrar o que melhor se enquadra a necessidade do vegetal, permitindo sua sobrevivência. Entretanto, segundo Rihan et al. (2017) a matriz composta por alginato se destacou devido à sua espessura sensível, fraca capacidade de fiação da solução, baixo custo, características de bioadequação e rápida gelificação.

Ademais, são adicionados à matriz reguladores de crescimento e nutrientes, que como dito acima, fazem o papel de endosperma ao embrião somático e são relevantes para a manutenção das sementes artificiais durante o armazenamento e consequentemente, uma alta frequência de conversão em planta e posteriormente, a germinação (SAIPRASAD, 2001).

Vale ressaltar que existem algumas barreiras que dificultam a ampla utilização das sementes sintéticas ou artificiais, e são referentes à deficiência de compreensão sobre os processos de encapsulamento do embrião somático frente às diferentes necessidades fisiológicas das espécies e também, relativo ao sucesso em produzir propágulos de alta

qualidade que suportem o armazenamento e germinação sob condições *ex vitro* (POND; CAMERON, 2003).

Uma aplicação está relacionada à propagação clonal em massa, como também a conservação de genótipos silvestres, híbridos simples e duplos, cultivares desenvolvidas a partir do melhoramento gênico que ainda não produziram sementes naturais ou mesmo, no caso de orquídeas, das quais as sementes são dependentes da interação com fungos micorrízicos (SINGH et al, 2006).

Além dessas, é válido citar que as sementes sintéticas são produzidas em condições assépticas, assim, são livres de patógenos e por isso, conferem uma grande vantagem com relação ao transporte deste material quando comparado às sementes tradicionais que acabam atuando como vetores de diversas doenças para as plantas (DAUD; TAHA; HASBULLAH, 2008).

Apesar disso, elas têm sido utilizadas como uma alternativa às espécies naturalmente estéreis, ou seja, não produzem sementes, como também à espécies recalcitrantes, intolerantes a secagem, viabilizando o armazenamento em bancos de germoplasma das mesmas (RAVI; ANAND, 2012).

2.5. Conversão da semente sintética em plântula

O processo de conversão em plântula está intrinsicamente relacionado à composição da matriz de encapsulamento que outrora abrigava a semente sintética, influenciando no sucesso da formação dos brotos e raízes do embrião somático (PRAKASH et al., 2018).

Outro fator determinante para a conversão em plântula é o tamanho do embrião somático, pois esta característica irá implicar no desenvolvimento das mudas e plantas (IQBAL; MÖLLERS, 2019).

Assim, os meios de cultura ou também chamados de meios de regeneração para a conversão apresentam comumente em sua composição baixos teores de sacarose (2–3%), ½ concentração de nutrientes do meio basal, ágar, suplementado com hormônios dos tipos BAP (6-benzilaminopurina), uma citocinina comumente utilizada na cultura de tecidos para estimular a divisão celular e induzir a formação de brotos e GA3 (ácido giberélico), outro regular que está relacionado a divisão celular e atua como estimulante de crescimento (ZHANG et al., 2006; GRAÇA; MARTINS, 2009).

3. METODOLOGIA

As informações coletadas acerca do uso e aplicação do encapsulamento, produção de sementes sintéticas e preservação em espécies da família Orchidaceae foram realizadas em três bases de dados bibliográficos — Web of Science, Scielo e Science Direct, utilizando filtros de pesquisa com temas “synthetic seeds”, “artificial seed”, “encapsulation seed”, “synthetic seeds” e “Orchidaceae”, e “Orchidaceae” e “seed”. Ao finalizar as pesquisas em cada base, as referências duplicadas foram excluídas. Foram selecionados artigos em inglês e português publicados entre 1998, ano em que surgiu o conceito de semente sintética, e 2022.

4. ANÁLISE E RESULTADOS

Esta revisão de literatura baseou-se no conteúdo de artigos que abrangem as temáticas sobre encapsulamento e produção de sementes sintéticas de espécies de orquídeas, como também de outras plantas ornamentais, incluindo pesquisas de aprimoramento das técnicas de produção das sementes sintéticas através de recursos tecnológicos e análises gênicas.

Vale destacar que durante o processo de revisão da literatura disponível foi observado que grande parte das pesquisas que envolvem a técnica de encapsulamento está direcionada para a criopreservação de espécies de orquídeas, contudo, não era o alvo de estudo do presente trabalho.

4.1. Aplicações no setor produtivo

Uma das facilidades permitidas pelo uso de sementes sintéticas é o de transporte desse material entre laboratórios ou indústrias de flores de corte em decorrência da cápsula de proteção que recobre o embrião somático encapsulado em cada semente, conferindo melhores condições de manuseio e armazenamento (GANTAIT; BUSTAM; SINNI AH. (2012).

Híbridos de elite como a *Aranda* Wan Chark Kuan 'Blue' × *Vanda coerulea* Griff. ex. Lindl. (AV), altamente comercializada nos trópicos pela beleza de suas flores (LEE et al, 1996), foi apontado como candidato ao uso de sementes sintéticas, isso porque, como nos demais gêneros da família Orchidaceae, o sucesso da propagação convencional é bastante reduzido (GANTAIT; SINNI AH, 2012).

No trabalho realizado por Gantait, Bustam e Sinniah (2012), foi desenvolvido um protocolo para produção de sementes sintéticas em AV, visando o armazenamento e

regeneração de plantas. Como explantes para o encapsulamento foram induzidos “protocorm-like bodies” (PBL’s), que são corpos semelhantes à protocormos, diferindo apenas da origem, já que protocormos desenvolvem-se de sementes tradicionais e os PBL’s são induzidos em meio de cultura e produzem grande quantidade de embriões somáticos em um curto período de tempo (LUO; ZHA; JIANG, 2003). Como resultado, as cápsulas ideais foram obtidas utilizando para o encapsulamento alginato de sódio a 3% com solução do sal CaCl_2 75 mM, o armazenamento obteve uma maior viabilidade das sementes sob a temperatura de 25° C, resultando em 76,9% de germinação com cápsulas armazenadas por 180 dias. Diante disso, verifica-se a potencialidade de utilização dessa técnica para armazenamento de curto a médio prazo.

Em outro estudo com o mesmo híbrido, Gantait e Sinniah (2013) desenvolveram a técnica de produção de sementes sintéticas em AV utilizando explantes oriundos de pontas de broto, isso porque, são tecidos com ampla atividade meristemática e costumam se desenvolver diretamente em plântulas por indução em meio de cultivo, sendo outra maneira de obter material para o encapsulamento. As cápsulas ideais foram obtidas com a matriz gelificante de alginato de sódio a 3% com solução de CaCl_2 75 mM. A temperatura ideal para o armazenamento também se manteve em 25° C. Além disso, foi avaliada a estabilidade genética entre clones produzidos através de marcadores ISSR, que não pontuaram polimorfismos mesmo após 200 (duzentos) dias de armazenamento. Ou seja, a alta estabilidade genética entre os clones demonstra resultados excelentes para a propagação em massa da AV.

Outra aplicabilidade foi estudada por Bustam et al. (2013), onde eles avaliaram o estágio ideal dos PBL’s para a produção de sementes sintéticas seguidas de regeneração direta em mudas, com o intuito de recomendar um sistema de armazenamento de PBL’s que permita a disponibilidade constante desse material. Além disso, ainda que seja regeneração direta, sem necessariamente o armazenamento dessas sementes artificiais, elas atuam como uma estrutura de proteção dos PBL’s, outrora nus, durante o transporte para plantio em campo, por exemplo, reduzindo as chances de infecção por patógenos no material (ARA; JAISWAL; JAISWAL, 2000). Assim, o resultado obtido foi de que PLB’s provenientes do híbrido *Dendrobium* Shavin White, uma orquídea muito popular por sua durabilidade, que mediram de 3 a 5 mm com broto garantiram melhor uniformidade de mudas e os que foram armazenados a 25 °C mantiveram alta viabilidade de germinação (88–96%) até 75 dias de armazenamento.

Ainda nesse contexto a título de exemplo, Asmah et al. (2011) testaram diferentes concentrações de alginato de cálcio e CaCl_2 para o encapsulamento e produção de sementes sintéticas da espécie híbrida *Acacia* da família Fabaceae. Como resultado, nas diferentes concentrações de alginato de sódio (3, 4 e 5%) com soluções de CaCl_2 variando entre 75 a 100 mM diferindo os tratamentos houve alta frequência de germinação (73,3 a 100%). Sobre tudo, é importante destacar sobre este trabalho que esse híbrido é resultante do cruzamento *Acacia mangium* e *Acacia auriculiformis*, e apresenta vantagem em relação aos parentais quanto à densidade de madeira que é maior, sendo indicado para a produção de celulose, papel, placas de fibras e para a marcenaria em geral. Contudo, a utilização das sementes das árvores desses híbridos não é apropriada porque elas são de baixo desempenho e altamente polimórficas. Essa característica está relacionada ao conceito de heterose ou vigor do híbrido, que supera o desempenho dos parentais, porém é reduzida pela metade a cada nova geração. Para tanto, a produção de sementes sintéticas pode ser considerada como uma alternativa para manutenção da integridade genética dos híbridos.

Há também outros trabalhos que descrevem metodologias específicas para diferentes espécies de orquídeas, avaliando diferentes concentrações para a formulação da matriz de encapsulamento e objetivando a propagação em larga escala. Manokari, Priyadharshini e Shekhawat (2021), por exemplo, recomendam o uso de alginato de sódio a 3% e 100 mM de CaCl_2 para encapsulamento de embriões somáticos diretos induzidos da superfície foliar de *Spathoglottis plicata*, conhecida popularmente como orquídea roxa, uma planta comum em jardins de casas e usada também para fins ornamentais (RECART; ACKERMAN; CUEVAS, 2013).

Semelhantemente, Mahdavi, Daylami e Aliniaiefard (2018) recomendam para o encapsulamento de protocormos derivados de sementes de híbridos de *Phalaenopsis*, um grupo de cultivares de alto valor econômico usado como flores de corte e em vasos de plantas, a concentração de alginato de sódio a 4% e solução de 150 mM de CaCl_2 . Foi observado 100% de germinação em meio MS após 3 (três) semanas de armazenamento.

Gantait, Subrahmanyaswari e Sinniah (2022) descreveram um protocolo de indução de PBL's, encapsulamento, armazenamento e germinação pós-armazenamento de outro híbrido comercialmente importante a *Mokara Sayan* × *Ascocenda Wangsa gold* (MA), conhecida pela exuberância de suas inflorescências. O uso de alginato de sódio a 3 % e 75 mM de CaCl_2 resultou na produção de sementes sintéticas claras, firmes e isodiamétricas, características consideradas ideais. Foi possível a conversão e recuperação em planta após 180 (cento e oitenta) dias de armazenamento sob a temperatura de 25° C, corroborando com os trabalhos

citados acima que avaliaram a temperatura ideal para manter a viabilidade das sementes sintéticas pós-armazenamento. Por fim, foi garantida a integridade genética entre os clones após serem submetidos à comparação com a planta-mãe através de marcadores moleculares RAPD, indicando 100% de monomorfismo. Mais uma vez, reforçando o potencial de manter a estabilidade genética durante a multiplicação de clones com esta técnica.

Além disso, visando aprimorar ainda mais esta importante técnica Mahfeli et al. (2022) utilizaram o software Image J para determinar as condições ideais para formação de sementes sintéticas e pontuar quais devem ser as características físicas desejáveis. Este software através do processamento de imagens consegue mapear a forma, área objeto, dimensões ortogonais, circunferência, diâmetro radial e tangencial, classificação baseada em tamanho, abundância de partículas e outras características físicas (IGATHINATHANE; PORDESIMO; BATCHELOR, 2009).

Até o presente momento, a germinação das sementes sintéticas em todos os trabalhos acima citados ocorreu de maneira assimbiótica. Contudo, sob um diferente e inovador ponto de vista, Tan et al. (1998) infectaram sementes sintéticas de orquídeas com o fungo micorrízico *Rhizoctonia* para obtenção de germinação simbiótica. As sementes infectadas com fungos foram capazes de se desenvolver em protocormos e em 6 (seis) semanas tornaram-se mudas de duas folhas. Segundo os autores, existem algumas vantagens em realizar a infecção e estão relacionadas à exclusão da sacarose na matriz de encapsulamento que é utilizada como fonte de carbono na germinação assimbiótica, mas que pode ter efeitos adversos como inibir a germinação por conta do aumento da pressão osmótica nas células. Por fim, concluem que um sistema com ausência de sacarose é o ponto de partida inicial para a germinação de sementes sintéticas de orquídeas livres de germes e bactérias.

4.2. Aplicações na conservação de germoplasma

Muitas espécies de orquídeas compõem as Listas Vermelhas de espécies ameaçadas de extinção. A exploração comercial para fins medicinais, aromáticos, ornamentais e tantos outros, acabam por deixar muitas espécies em situação de vulnerabilidade levando em consideração principalmente as barreiras fisiológicas enfrentadas para a germinação em ambiente natural (IUCN, 1999; MYERS et al, 2000; SWARTS; DIXON, 2009).

A fim de estabelecer um protocolo de encapsulamento, armazenamento e regeneração de plantas da espécie *Ansellia africana* Lindl. que os autores Bhattacharyya, Kumar e Staden (2018) induziram PBL's como explantes para a produção de sementes sintéticas. A espécie

está classificada como “vulnerável” e pela IUCN (BAILLIE; HILTON-TAYLOR; STUART, 2004), e ainda é explorada comercialmente por suas propriedades medicinais no tratamento de distúrbios nervosos (BHATTACHARYYA; STADEN, 2016). A matriz de encapsulamento com concentração de alginato de sódio a 3% e 100 mM de CaCl_2 foi considerada ideal e a capacidade de regeneração de plântulas foi melhor quando o armazenamento ocorreu a 8° C, diferindo de outras orquídeas. Além disso, foi realizada a estabilidade genética através de marcadores IRAP e SCoT que apontaram uma variação somaclonal de 7,40%, considerada uma baixa variabilidade. Assim, os autores enfatizam a importância de avaliação das condições ideais específicas para cada espécie, como também a necessidade de mais estudos relacionados à variação somaclonal durante processos de micropropagação.

De acordo com as listas do Apêndice II da CITES16, outro gênero com espécies ameaçadas de extinção é o *Cymbidium*, altamente explorado para fins terapêuticos, comercialização ilegal e alvo de colecionadores de orquídeas (VERMA; PATHAK, 2021). Nesse trabalho, Verma e Pathak (2021) induziram PBL's oriundos de pontas de caules de *Cymbidium aloifolium* a fim de determinar a matriz gelificante ideal para o encapsulamento, o efeito de aditivos de crescimento e capacidade de regeneração em plântula após diferentes períodos de armazenamento. Foi observado que a concentração de alginato de sódio a 3% e 100 mM de CaCl_2 formaram cápsulas com características ideais e a maior viabilidade de regeneração foram em sementes armazenadas sob 4° C. Houve uma redução gradual da viabilidade das sementes ao longo dos 60 dias de armazenamento. Com isso, os autores sugerem que sejam testadas substâncias de revestimento para as cápsulas, como cera ou resina.

Do mesmo modo, Bektaş e Sökmen (2016) desenvolveram um protocolo para produção de sementes sintéticas da espécie *Serapias vomeracea* (Burm.f.) Briq. Esta espécie é explorada comercialmente para a produção de bebidas quentes e sorvetes, levantando a preocupação de que possivelmente ela entrará para a lista de espécies ameaças de extinção. Assim, através da indução de PBL's e encapsulamento, foi determinado que a matriz gelificante ideal é com alginato de sódio a 3% e 75 mM de CaCl_2 . Foi possível observar 100% de germinação em meio de cultura após o armazenamento e 91% das mudas permaneceram viáveis após transferência para o meio de turfa esterilizado. Contudo, os autores sugerem estudos relacionados à adaptação das mudas regeneradas em campos agrícolas e sob diferentes condições ambientais.

Ainda sobre protocolos de conservação de germoplasma em espécies ameaçadas de extinção e neste caso, uma espécie que é endêmica da Índia e Sri Lanka, com distribuição

extremamente restrita, a *Ipsea malabarica* (Reichb. f.) J. D. Hook. foi alvo de pesquisa do trabalho formulado por Martin (2003). Os explantes decorrentes da multiplicação de gemas axilares e indução de brotos foram cultivados até desenvolverem-se em bulbos, e foram posteriormente encapsulados em alginato de sódio a 3% e CaCl_2 a 0,7%, resultando em 100% de conversão em plântulas. Segundo o autor, este protocolo é capaz de produzir mais de 40.000 plântulas em 250 dias, um resultado excelente tanto para fins de conservação, quanto para o setor produtivo.

Por fim, uma aplicação muito relevante da técnica de encapsulamento que não envolve necessariamente a produção de sementes sintéticas para regeneração a curto e médio prazo de tempo é a criopreservação. A criopreservação de maneira resumida é o armazenamento de células, tecidos e órgãos vivos na temperatura do nitrogênio líquido (-196°C) e é apontada como a forma mais eficaz de preservação de germoplasma a longo prazo sem implicar em alterações gênicas (ENGELMANN, 2000). Ela tem sido aplicada com esse intuito em diferentes espécies de plantas ornamentais e de algumas orquídeas.

No trabalho realizado por Flachslund et al. (2006) foi descrito um protocolo de encapsulamento de sementes e protocormos de *Oncidium bifolium* Sims, uma espécie de ampla distribuição na América do Sul, contudo, está sob ameaça de extinção devido ao desmatamento e exploração comercial de suas flores. O resultado obtido foi de que, o material criopreservado oriundo de sementes teve uma taxa de regeneração em plântula de até 4,8% e os oriundos de protocormos, 11,3%. Ainda que sejam valores baixos, essas mudas podem ser aproveitadas para a produção de sementes sintéticas, e assim, multiplicação clonal e propagação em larga escala.

4.3. Dificuldades na obtenção de sementes sintéticas

A tecnologia de encapsulamento e produção de sementes sintéticas apresentam alguns gargalos. A variação somaclonal em alguns métodos de propagação em massa precisa ser amplamente estudada e superada, a fim de obter resultados próximos a 100% de monomorfismo entre os clones (GANTAIT; SUBRAHMANYESWARI; SINNI AH, 2022). Sobre fatores genéticos, o aparecimento de plântulas mutantes também é relatado na literatura (SILVA et al, 2015). Diante disso, compreender as mudanças de ploidia dos vegetais através do uso de colchicina, substância que tem a capacidade de interromper a formação das fibras do fuso durante a meiose, impedindo a distribuição regular do conteúdo gênico nas células-

filhas e transformando células diploides em triploides ou tetraploides, é alternativa para aproximar-se também da estabilidade genética entre clones.

A utilização de carvão ativado no endosperma de sementes sintéticas têm demonstrado melhorias na germinação e regeneração de plântulas, aumentando a difusão de gases, difusão de nutrientes e respiração dos embriões somáticos (THOMAS, 2008). Contudo, a literatura diverge bastante com relação às concentrações ideais, que por vezes são específicas para cada espécie ou gênero. Assim, estudos de determinação de concentrações ideais de carvão ativado na síntese de sementes sintéticas também são de grande valia para avanços dessa técnica.

Outra aplicação que precisa ser mais explorada é a de criopreservação em espécies de orquídeas. Segundo Das et al. (2021), apenas 0,34% das mais de 25.000 espécies está documentada, por isso, mais esforços devem ser investidos para aumentar esse percentual e abastecer os bancos de germoplasma findados a conservação, principalmente de espécies ameaçadas de extinção.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A principal técnica utilizada no encapsulamento e produção de sementes sintéticas é a formação de cápsulas recobertas pela matriz gelificante em orquídeas e composta essencialmente por alginato de sódio, sendo a concentração variável de acordo com a espécie e a condição de armazenamento. Essas cápsulas conferem proteção contra danos mecânicos ao material encapsulado e também é fonte de nutrição para a regeneração em plântula e desenvolvimento em muda.

O tempo de armazenamento de sementes sintéticas de orquídeas varia de curto a médio prazo. Foram observadas sementes viáveis com até 200 (dias) de armazenamento, contudo, também é uma característica variável de acordo com a espécie e com a finalidade de aplicação.

Os explantes utilizados para o encapsulamento são quase que na totalidade dos trabalhos oriundos de PBL's, corpos semelhantes à protocormos, que são induzidos em laboratório a partir de regiões meristemáticas ou de outros órgãos da planta através da cultura de tecidos e assim, fornecem material para produzir as sementes sintéticas.

Os estudos sobre encapsulamento e produção de sementes sintéticas em orquídeas têm crescido, porém ainda há muito a se pesquisar, principalmente com relação ao desenvolvimento de metodologias de propagação em massa de espécies muito exploradas economicamente e que estão ameaçadas de extinção, viabilizando também sua conservação.

6. REFERÊNCIAS

- AKÇIN, T. A.; OZDENER, Y.; AKÇIN, A. Taxonomic value of seed characters in orchids from Turkey. **Belgian Journal of Botany**, p. 124-139, 2009.
- ARA, H.; JAISWAL, U.; JAISWAL, V. S. Synthetic seed: prospects and limitations. **Current science**, p. 1438-1444, 2000.
- ARDITTI, J.; GHANI, A. K. A. Tansley Review No. 110. Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. **The New Phytologist**, v. 145, n. 3, p. 367-421, 2000.
- ASMAH, H. N.; HASNIDA, H. N.; ZAIMAH, N. N.; NORALIZA, A.; SALMI, N. N. Synthetic seed technology for encapsulation and regrowth of in vitro-derived *Acacia* hybrid shoot and axillary buds. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 40, p. 7820-7824, 2011.
- BAILLIE, J. E.; HILTON-TAYLOR, C.; STUART, S. N. IUCN red list of threatened species. **A global species assessment. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK**, v. 24, p. 1-191, 2004.
- BASKARAN, P.; KUMARI, A.; VAN STADEN, J. Embryogenesis and synthetic seed production in *Mondia whitei*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 121, n. 1, p. 205-214, 2015.
- BEKTAŞ, E.; SÖKMEN, A. In vitro seed germination, plantlet growth, tuberization, and synthetic seed production of *Serapias vomeracea* (Burm. f.) Briq. **Turkish Journal of Botany**, v. 40, n. 6, p. 584-594, 2016.
- BHATTACHARYYA, P.; STADEN, J. V. *Ansellia africana* (Leopard orchid): A medicinal orchid species with untapped reserves of important biomolecules—A mini review. **South African Journal of Botany**, v. 106, p. 181-185, 2016.
- BHATTACHARYYA, P.; KUMAR, V.; STADEN, J. V. In vitro encapsulation based short term storage and assessment of genetic homogeneity in regenerated *Ansellia africana*

(Leopard orchid) using gene targeted molecular markers. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 133, n. 2, p. 299-310, 2018.

BRASIL, F. F. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 14 dez. 2022.

BUSTAM, S.; SINIAH, U. R.; KADIR, M. A.; ZAMAN, F. Q.; SUBRAMANIAM, S. Selection of optimal stage for protocorm-like bodies and production of artificial seeds for direct regeneration on different media and short term storage of *Dendrobium* Shavin White. **Plant Growth Regulation**, v. 69, n. 3, p. 215-224, 2013.

DAHLGREN, R. M. T.; CLIFFORD, H. T.; YEO, P. F. **The families of the monocotyledons: structure, evolution, and taxonomy**. Springer Science & Business Media, 1984.

DAS, M. C.; DEVI, S. D.; KUMARIA, S.; REED, B. M. Looking for a way forward for the cryopreservation of orchid diversity. **Cryobiology**, v. 102, p. 1-14, 2021.

DAUD, N.; TAHA, R. M.; HASBULLAH, N. A. Artificial seed production from encapsulated micro shoots of *Saintpaulia ionantha* Wendl.(African violet). **J. Appl. Sci**, v. 8, n. 24, p. 4662-4667, 2008.

DEARNALEY, J. D. W. Further advances in orchid mycorrhizal research. **Mycorrhiza**, v. 17, n. 6, p. 475-486, 2007.

DRESSLER, Robert L. **The orchids: natural history and classification**. Harvard University Press, 1981.

ENGELMANN, F. Importance of cryopreservation for the conservation of plant genetic resources. **Cryopreservation of Tropical Plant Germplasm—Current Research Progress and Applications**, IPGRI, Rome & JIRCAS, Tsukuba, p. 8-20, 2000.

ERIKSSON, O.; KAINULAINEN, K. The evolutionary ecology of dust seeds. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 13, n. 2, p. 73-87, 2011.

FLACHSLAND, E.; TERADA, G.; SCOCCHI, A.; REY, H.; MROGINSKI, L.; ENGELMANN, F. Cryopreservation of seeds and in vitro-cultured protocorms of *Oncidium bifolium* Sims.(Orchidaceae) by encapsulation-dehydration. **CryoLetters**, v. 27, n. 4, p. 235-242, 2006.

FREUDENSTEIN, J. V.; RASMUSSEN, F. N. What does morphology tell us about orchid relationships?—A cladistic analysis. **American Journal of Botany**, v. 86, n. 2, p. 225-248, 1999.

GANTAIT, S.; BUSTAM, S.; SINNIHA, U. R. Alginate-encapsulation, short-term storage and plant regeneration from protocorm-like bodies of *Aranda* Wan Chark Kuan ‘Blue’× *Vanda coerulea* Griff. ex. Lindl.(Orchidaceae). **Plant Growth Regulation**, v. 68, n. 2, p. 303-311, 2012.

GANTAIT, S.; SINNIHA, U. R. Rapid micropropagation of monopodial orchid hybrid (*Aranda* Wan Chark Kuan ‘Blue’× *Vanda coerulea* Griff. ex. Lindl.) through direct induction of protocorm-like bodies from leaf segments. **Plant Growth Regulation**, v. 68, n. 2, p. 129-140, 2012.

GANTAIT, S.; SINNIHA, U. R. Storability, post-storage conversion and genetic stability assessment of alginate-encapsulated shoot tips of monopodial orchid hybrid *Aranda* Wan Chark Kuan ‘Blue’× *Vanda coerulea* Griff. ex. Lindl. **Plant biotechnology reports**, v. 7, n. 3, p. 257-266, 2013.

GANTAIT, S.; SUBRAHMANYESWARI, T.; SINNIHA, U. R. Leaf-based induction of protocorm-like bodies, their encapsulation, storage and post-storage germination with genetic fidelity in *Mokara* Sayan× *Ascocenda* Wangsa gold. **South African Journal of Botany**, v. 150, p. 893-902, 2022.

GHOSH, B.; SEN, S. Plant regeneration from alginate encapsulated somatic embryos of *Asparagus cooperi* Baker. **Plant cell reports**, v. 13, n. 7, p. 381-385, 1994.

GRAÇA, S. B.; MARTINS, C. R. Efeito Do Ga3 (Ácido Giberélico) E Bap (6benzilaminopurina) Na Multiplicação In Vitro De *Eucalyptus dunnii*. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 1, n. 1, 2009.

GRAY, D. J.; PUROHIT, A.; TRIGLANO, R. N. Somatic embryogenesis and development of synthetic seed technology. **Critical reviews in plant sciences**, v. 10, n. 1, p. 33-61, 1991.

HAQUE, S. M.; GHOSH, B. Regeneration of cytologically stable plants through dedifferentiation, redifferentiation, and artificial seeds in *Spathoglottis plicata* Blume.(Orchidaceae). **Horticultural Plant Journal**, v. 3, n. 5, p. 199-208, 2017.

HERRERA, H.; GARCÍA-ROMERA, I.; MENESES, C.; PEREIRA, G.; ARRIAGADA, C. Orchid mycorrhizal interactions on the Pacific side of the Andes from Chile. A review. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 19, n. 1, p. 187-202, 2019.

IGATHINATHANE, C.; PORDESIMO, L. O.; BATCHELOR, W. D. Major orthogonal dimensions measurement of food grains by machine vision using ImageJ. **Food Research International**, v. 42, n. 1, p. 76-84, 2009.

IQBAL, M. C. M.; MÖLLERS, C. Towards artificial seeds from microspore derived embryos of *Brassica napus*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 139, n. 2, p. 207-225, 2019.

IUCN, WCU. IUCN guidelines for the prevention of biodiversity loss due to biological invasion. **Species**, v. 31, n. 32, p. 28-42, 1999.

KRAHL, A. H.; COGO, A. J. D.; VALSKO, J. J. Orchidaceae em um fragmento de floresta semidecídua de encosta na região sul do Estado do Espírito Santo, Sudeste do Brasil. **Hoehnea**, v. 41, p. 247-268, 2014.

LEE, Y. H.; WONG, S. M.; TAN, W. K.; GOH, C. J. Breeding vandaceous orchids for commercial cut-flowers in Singapore: an overview. **Euphytica**, v. 89, n. 2, p. 235-241, 1996.

LUO, J. P.; ZHA, X. Q.; JIANG, S. T. Suspension culture of protocorm-like bodies from the endangered medicinal plant *Dendrobium huoshanense*. **Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica**, v. 28, n. 7, p. 611-614, 2003.

MAHFELI, M.; MINAEI, S.; FADAVI, A.; DAYLAMI, S. D. Precision measurement of physical properties of orchid synthetic seeds produced under various encapsulation conditions using Image J platform. **Industrial Crops and Products**, v. 187, p. 115364, 2022.

MAHDAVI, Z.; DAYLAMI, S. D.; ALINIAEIFARD, S. Protocorms encapsulation of *Phalaenopsis hybrids* (Orchidaceae) in order to schedule in vitro plantlet production. In: **XXX International Horticultural Congress IHC2018: II International Symposium on Micropropagation and In Vitro Techniques 1285**. p. 63-68, 2018.

MALABADI, R. B.; STADEN, J. V. Storability and germination of sodium alginate encapsulated somatic embryos derived from the vegetative shoot apices of mature *Pinus patula* trees. **Plant cell, tissue and organ culture**, v. 82, n. 3, p. 259-265, 2005.

MANGENA, P. Synthetic seeds and their role in agriculture: status and progress in sub-Saharan Africa. **Plant Science Today**, v. 8, n. 3, p. 482–490-482–490, 2021.

MANOKARI, M.; PRIYADHARSHINI, S.; SHEKHAWAT, M. S. Direct somatic embryogenesis using leaf explants and short term storage of synseeds in *Spathoglottis plicata* Blume. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 145, n. 2, p. 321-331, 2021.

MARTIN, K. P. Clonal propagation, encapsulation and reintroduction of *Ipea malabarica* (Reichb. f.) JD Hook., an endangered orchid. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 39, n. 3, p. 322-326, 2003.

MEZZALIRA, F. K.; KUHN, B. C. O prestígio da família Orchidaceae para o mundo: artigo de revisão. **Revista Pleiade**, v. 13, n. 29, p. 58-68, 2019.

MURASHIGE, T. Plant cell and organ cultures as horticultural practices. In: **Symposium on Tissue Culture for Horticultural Purposes 78**. 1977. p. 17-30.

MURASHIGE, T. The impact of plant tissue culture on agriculture. In: **Thorpe, T. (Ed.), Frontiers of Plant Tissue Cultures**. International Association for Plant Tissue Culture, University of Calgary, Alberta, Canada, 1978. p. 15–26.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.

OTERO, J. T.; FLANAGAN, N. S. Orchid diversity--beyond deception. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 21, n. 2, p. 64-5; author reply 65, 2005.

PECORARO, L.; HUANG, L.; CARUSO, T.; PEROTTO, S.; GIRLANDA, M.; CAI, L.; LIU, Z. J. Fungal diversity and specificity in *Cephalanthera damasonium* and *C. longifolia* (Orchidaceae) mycorrhizas. **Journal of Systematics and Evolution**, v. 55, n. 2, p. 158-169, 2017.

PÉREZ-ESCOBAR, O. A.; CHOMICKI, G.; CONDAMINE, F. L.; KARREMANS, A. P.; BOGARÍN, D.; MATZKE, N. J.; SILVESTRO, D.; ANTONELLI, A. Recent origin of Neotropical orchids in the world's richest plant biodiversity hotspot. **New Phytol.** v. 215, p. 891–905, 2017.

POND, S.; CAMERON, S. Artificial Seeds, Tissue Culture, **Elsevier Ltd.** p. 1379-1388, 2003.

POWO. **Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew.** 2022. Disponível em: <https://powo.science.kew.org/cite-us>. Acesso em: 14 dez. 2022.

PRAKASH, A. V.; NAIR, D. S.; ALEX, S.; SONI, K. B.; VIJI, M. M.; REGHUNATH, B. R. Calcium alginate encapsulated synthetic seed production in *Plumbago rosea* L. for germplasm exchange and distribution. **Physiology and molecular biology of plants**, v. 24, n. 5, p. 963-971, 2018.

QI, J.; ZHOU D.; JIANG W.; CHEN, G.; LI, W.; LI, N. Dihydrophenanthrenes from medicinal plants of Orchidaceae: A review. **Chinese Herbal Medicines**, v. 13, n. 4, p. 480-493, 2021.

RAVI, D.; ANAND, P. Production and applications of artificial seeds: a review. **Int Res J Biol Sci**, v. 1, n. 5, p. 74-78, 2012.

RECART, W.; ACKERMAN, J. D.; CUEVAS, A. A. There goes the neighborhood: apparent competition between invasive and native orchids mediated by a specialist florivorous weevil. **Biological Invasions**, v. 15, n. 2, p. 283-293, 2013.

RIHAN, H. Z.; KAREEM, F.; EL-MAHROUK, M. E.; FULLER, M. P. Artificial seeds (principle, aspects and applications). **Agronomy**, v. 7, n. 4, p. 71, 2017.

SAIPRASAD, G. V. S. Artificial seeds and their applications. **Resonance**, v. 6, n. 5, p. 39-47, 2001.

SCHOENMAKER, K. **Boletim Informativo Ibraflor**. v. 81, 2017.

SHARMA, S.; SHAHZAD, A.; SILVA, J. A. Teixeira. Synseed technology—a complete synthesis. **Biotechnology Advances**, v. 31, n. 2, p. 186-207, 2013.

SILVA, M. F. F. F.; SILVA, J. B. F. Orquídeas Nativas da Amazônia Brasileira. 2. ed. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2010.

SILVA, J. A. T.; CARDOSO, J. C.; DOBRÁNSZKI, J.; ZENG, S. Dendrobium micropropagation: a review. **Plant cell reports**, v. 34, n. 5, p. 671-704, 2015.

SINGH, A. K., SHARMA, M., VARSHNEY, R., AGARWAL, S. S., & BANSAL, K. C.. Plant regeneration from alginate-encapsulated shoot tips of *Phyllanthus amarus* Schum and Thonn, a medicinally important plant species. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 42, n. 2, p. 109-113, 2006.

ŚLIWIŃSKI, T.; KOWALCZYK, T.; SITAREK, P.; KOLANOWSKA, M. Orchidaceae-Derived Anticancer Agents: A Review. **Cancers**, v. 14, n. 3, p. 754, 2022.

SUT, S.; MAGGI, F.; DALL'ACQUA, S. Bioactive secondary metabolites from orchids (Orchidaceae). **Chemistry & biodiversity**, v. 14, n. 11, p. e1700172, 2017.

SWARTS, Nigel D.; DIXON, Kingsley W. Terrestrial orchid conservation in the age of extinction. **Annals of botany**, v. 104, n. 3, p. 543-556, 2009.

TAN, T. K.; LOON, W. S.; KHOR, E.; LOH, C. S. Infection of *Spathoglottis plicata* (Orchidaceae) seeds by mycorrhizal fungus. **Plant Cell Reports**, v. 18, n. 1, p. 14-19, 1998.

THOMAS, T. D. The role of activated charcoal in plant tissue culture. **Biotechnology advances**, v. 26, n. 6, p. 618-631, 2008.

VARGAS, D.; DUTRA, L.; FORMOSO, R.; COSTA, R. R.; CORADIN, J.; TAVARES, V. D. S.; CASTRO, C. Sementes sintéticas: Tecnologia para viabilizar a conservação in vitro da Batata. **Embrapa Clima Temperado-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2014.

VERMA, S.; PATHAK, P. Effective use of synthetic seed technology in the regeneration of *Cymbidium aloifolium* using protocorm-like bodies. **Current Science**, v. 120, n. 3, p. 570, 2021.

ZAPPI, D. C.; FILARDI, F. L. R.; LEITMAN, P.; SOUZA, V. C.; WALTER, B. M.; PIRANI, J. R.; GOMES-KLEIN, V. L. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, p. 1085-1113, 2015.

ZHANG, G. Q.; ZHANG, D. Q.; TANG, G. X.; He, Y.; ZHOU, W. J. Plant development from microspore-derived embryos in oilseed rape as affected by chilling, desiccation and cotyledon excision. **Biologia Plantarum**, v. 50, n. 2, p. 180-186, 2006.