



MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE ORQUÍDEA *Schomburgkia spp*

IN VITRO MULTIPLICATION OF ORCHID *Schomburgkia spp*

Fabiana Barbosa do Nascimento¹; Vinicius Rezende Carrijo²; Marcos Vinicius da Costa Ericeira³; Bruna da Silva Salvador⁴; Caroline Marques da Silva⁵; Érica Catrine Queiroz Costa⁶; Beatriz Emanuela Pereira da Cruz⁷; Emilly Vitoria Sobral Silveira⁸.

¹Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR-174, Km 12, Monte Cristo - Boa Vista - Roraima, CEP 69.301-970, Brasil. fabiananascimento96@gmail.com. Apresentador do trabalho.; ²Instituto de Educação e Inovação (IEDi), Av. Ville Roy, 1908 - Caçari, Boa Vista - RR, 69307-725, Brasil. vini200vinicius@hotmail.com; ³Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR-174, Km 12, Monte Cristo - Boa Vista - Roraima, CEP 69.301-970, Brasil. marcos.vinicius.ericera@gmail.com; ⁴Instituto de Educação e Inovação (IEDi), Av. Ville Roy, 1908 - Caçari, Boa Vista - RR, 69307-725, Brasil. bruna.s.salvador.12@gmail.com; ⁵Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR 174, Km 12, Monte Cristo - Boa Vista - Roraima, CEP 69.301-970, Brasil. carolinemarques169@gmail.com; ⁶Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR 174, Km 12, Monte Cristo - Boa Vista - Roraima, CEP 69.301-970, Brasil. ericscatrine07@gmail.com; ⁷Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR 174, Km 12, Monte Cristo - Boa Vista - Roraima, CEP 69.301-970, Brasil. beatriz.e.p.c@gmail.com; ⁸Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR 174, Km 12, Monte Cristo - Boa Vista - Roraima, CEP 69.301-970, Brasil. emillysilveira43@gmail.com

INTRODUÇÃO

As orquídeas são plantas herbáceas perenes bastante diversificadas quanto ao tamanho, à forma dos caules e folhas e à cor das flores. Espécies de orquídeas são comercialmente cultivadas para produção e venda em vaso e de flores para arranjos ornamentais (TOMBOLATO; COSTA, 1998). A *Schomburgkia sp.* é uma espécie de orquídea epífita, encontrada em matas ciliar e atualmente é considerada uma espécie ameaçada de extinção na região Amazônica. Com o passar dos anos, as técnicas de cultivo *in vitro* tem sido uma alternativa importante e primordial para o resgate de espécies ameaçadas de extinção e pela propagação de diversas espécies comerciais.

A germinação de sementes de orquídeas *in vitro* está sendo realizada desde o século passado, quando Knudson (1922) descreveu a germinação em meio de cultura asséptico. De acordo com Martini et al. (2001), a sementeira assimbiótica de orquídeas constitui técnica bastante relevante do ponto de vista comercial e ecológico. As mudas produzidas por meio da multiplicação *in vitro* podem ser utilizadas em programas de reintrodução de espécies nativas em áreas de preservação ambiental devido à variabilidade genética gerada pelo explante.

Portanto a formulação do meio de cultura ideal é essencial para o explante, pois possibilita a presença dos constituintes necessários (minerais, vitaminas, reguladores de crescimento etc.) para seu desenvolvimento, podendo ser formulado com diferentes combinações, de acordo com os requerimentos de cada espécie (FARIA et al., 2002). Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi determinar uma concentração de BAP (6-benzilaminopurina) ideal e um meio de cultura eficiente para germinação das sementes e crescimento inicial *in vitro* das plântulas de *Schomburgkia sp.*

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa-RR. A cápsula de orquídea *Shomburgkia sp.* é proveniente do banco de germoplasma da Embrapa Roraima no período de agosto de 2022. Após a coleta da cápsula, foi realizado a desinfestação em câmara de fluxo laminar, utilizando álcool 70% por 3 minutos e hipoclorito de sódio por 15 minutos. Posteriormente, as sementes



foram inoculadas em meio de cultura Murashige e Skoog (MS), e 60 dias após a germinação (Figura 1), quando as plântulas atingirem aproximadamente 0,5 cm de altura, foram selecionadas para instalação do experimento.

Os tratamentos foram constituídos pela variação da composição de dois meios de cultura: Murashige e Skoog (MS) e meio de cultura Knudson (KC) combinados com diferentes concentrações de 6- benzilaminopurina (BAP) (0; 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 mg L⁻¹). Sendo constituídos de acordo com a descrição a seguir: (T- meio MS na ausência de BAP; T2 – meio MS + 0,25 mg L⁻¹ de BAP; T3 – meio MS + 0,5 mg L⁻¹ de BAP; T4 - meio MS + 0,75 mg L⁻¹ de BAP; T5 – meio MS + 1,0 mg L⁻¹ de BAP; T6 – Meio KC na ausência de BAP; T7– Meio KC + 0,25 mg L⁻¹ de BAP; T8 – Meio KC + 0,5 mg L⁻¹ de BAP; T9 – Meio KC + 0,75 mg L⁻¹ de BAP e T10 – Meio KC + 1,0 mg L⁻¹ de BAP. Todos os tratamentos foram suplementados com 500 mg L⁻¹ de carvão ativado, 7 g L⁻¹ de ágar, 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,7 e, em seguida, submetido à esterilização em autoclave, a 120°C, durante 20 minutos.

Após inoculação, os frascos foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25± 2°C e fotoperíodo de 16 horas por 30 dias. Após os 30 dias de cultivo, foram avaliadas as seguintes variáveis: número de brotos, o comprimento do maior broto (cm), número de raiz, comprimento da maior raiz (cm) e massa fresca das plântulas (g). Não foi avaliada a massa seca em virtude de ser uma espécie de interesse para continuidade das pesquisas e por ter uma quantidade limitada de explantes *in vitro*. Portanto, serão instalados novos experimentos, visando obter maior número de mudas de *Shomburgkia sp.*

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial duplo, constituído por duas composições de meio de cultura (MS e KC) combinados a cinco concentrações de BAP (0; 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 mg L⁻¹). Cada tratamento foi constituído de cinco repetições, contendo 5 explantes cada, totalizando 25 explantes por tratamento. Os dados obtidos foram analisados por meio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância, houve diferenças significativas entre os meios de cultura e as concentrações testadas, para as variáveis comprimento de brotos, comprimento do sistema radicular e porcentagem de sobrevivência, já para as variáveis número de brotos e número de raízes houve diferenças somente para o fator meio de cultura.

A tabela 1 mostra o efeito do meio de cultura para as variáveis número de brotos e número de raízes. Observou-se que para número de brotos as maiores média foram obtidas quando se utilizou o meio de cultura MS, obtendo-se média de 0,86 brotos por explante. Resultado semelhante foi observado para a variável número de raízes onde o meio MS apresentou maior média (1,02 cm), quando comparado com meio KC (0,37 cm) (Tabela 1).



TABELA 1 - Número de brotos e raízes de *Shomburgkia sp.* submetidos a diferentes meios de cultura.

Meio	N. Brotos	N. Raízes
KC	0,29 B	0,37 B
MS	0,86 A	1,02 A
CV	24,78	46,02

*médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de tukey < 0,5%.

Analisando o efeito dos meios de cultura, foi constatado que o meio MS se diferenciou relativamente do meio de cultura KC. Obtendo assim melhor desenvolvimento dos explantes durante todo o período analisado. O meio de cultura Knudson KC é o mais utilizado para a semeadura, pois é composto por baixo conteúdo de sais, com aproximadamente $\frac{1}{4}$ da concentração de íons de nitrato e amônio do meio de cultura MS, que, por sua vez, é conhecido como um meio com alto conteúdo de sais (RIBEIRO et al., 2002). Provavelmente a espécie é mais exigente em nutrientes e apresentou resultados superiores quando utilizou-se o meio MS.

Quando avaliado o comprimento dos brotos (figura 1), observou-se que teve uma interação entre os meios de culturas e concentrações. Sendo assim, para meio de cultura KC observou-se aumento no comprimento de broto até a concentração de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP, a partir dessa concentração houve efeito inibitório no crescimento dos brotos. Já para o meio de cultura MS houve leve decréscimo no comprimento do broto nas concentrações mais baixas, a partir da concentração de $0,75 \text{ mg L}^{-1}$ maiores foram as médias encontradas, sendo o maior comprimento observado na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP (1,10 cm).

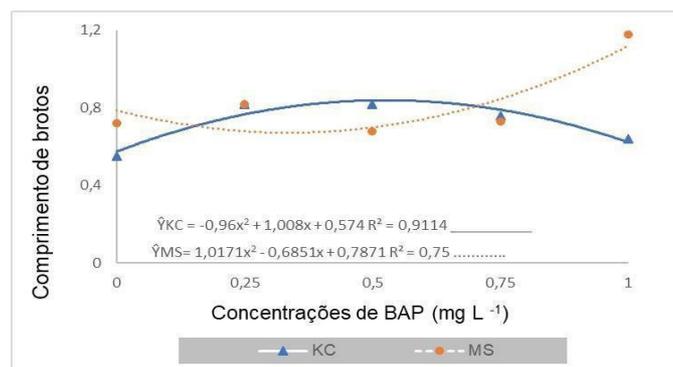


FIGURA 1 - Comprimento de brotos (cm) de *Shomburgkia sp.* em função de diferentes meios de cultura e concentrações de BAP

Os reguladores de crescimento são determinantes para o crescimento das plântulas e para que haja um padrão de desenvolvimento (LONGO et al., 2016). Monfort et al. (2012) salientam que as citocininas, quando utilizadas em cultivo *in vitro*, até determinada concentração, estimulam a brotação, porém, concentrações acima da ótima propiciam efeitos desfavoráveis à indução de brotos.

Para a variável comprimento de raízes, observou-se comportamento semelhantes, para todas as



concentrações testadas, onde o meio de cultura MS observou comportamento linear e a medida em que se elevou a concentração de BAP maiores foram as médias observadas (0,2 cm) na concentração de 1,0 mg L⁻¹ de BAP. Já para o meio KC observou-se comportamento contrário, a medida em que se elevou a concentração de BAP menores foram as médias observadas (figura 2).

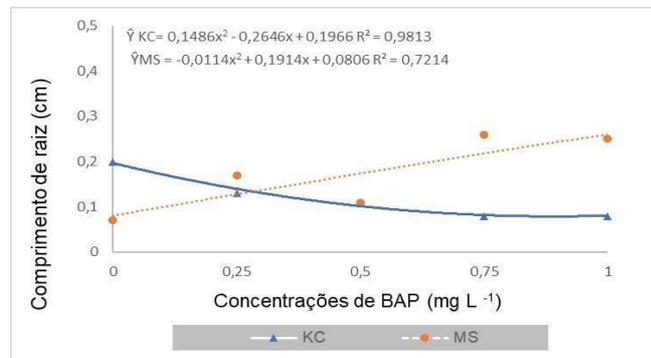


FIGURA 2 - Comprimento de raiz (cm) de *Shomburgkia sp.* em função de diferentes meios de cultura e concentrações de BAP

Navroski et al. (2014) salientam que concentrações elevadas de citocinina podem inibir ou atrasar a formação de raízes e, além de prejudicar o seu comprimento, podem anular os efeitos benéficos das auxinas sobre a indução do sistema radicular.

Quanto a variável porcentagem de sobrevivência observou-se comportamento semelhante para os dois meios de cultura testados, onde as médias foram acima de 90% para todos os tratamentos e assim como nas demais variáveis de concentração de 1,0 mg L⁻¹ de BAP em meio MS apresentou 100% de sobrevivência (figura 3).

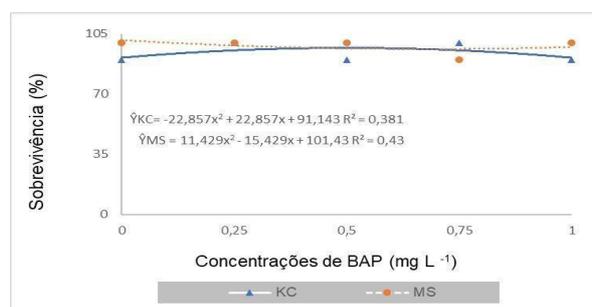


FIGURA 3 - média de sobrevivência (%) das plântulas de *Shomburgkia sp.*, cultivadas *in vitro*, em função das concentrações de BAP nos diferentes tipos de meio de cultura

CONCLUSÃO

O meio de cultura MS é o mais indicado para a multiplicação de *Shomburgkia sp.*,

A combinação do meio de cultura Murashige e Skoog (MS) com concentração de 1,0 mg L⁻¹ de



6- benzilaminopurina (BAP), é o mais adequado na multiplicação *in vitro* de *Shomburgkia sp.*

AGRADECIMENTO

À Capes pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

- FARIA, R. T.; SANTIAGO, D.C.; SARIDAKIS, D.P.; ARAÚJO, R. Preservation of the brazilian orchid *Cattleya walkeriana* Gardner using *in vitro* propagation. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 2, n. 3, 2002.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs: Sisvar. **Brazilian Journal of Biometrics**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.
- KURITA, F.M.K.; TAMAKI, V. *In vitro* growth of the bromeliad *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms with different concentrations of nitrogen. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 36, n. 3, p. 279-285, 2014.
- KNUDSON, L. A new nutrient solution for orchid seed germination. **American Orchid Society Bulletin**, v. 15, n. 9, p. 214-217, 1946.
- MARTINI, P. C.; WELLADINO, L.; ALVES, G. D.; DONATO, V. M. T. S. Propagation of orchid *Gongora quinquenervis* *in vitro* germination. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 10, p. 1319 – 1324, 2001.
- NAVROSKI, M. C.; REINEGER, L.R.S.; ARAUJO, M.M.; CURTI, A.R.; PEREIRA, M.O. *In vitro* establishment and multiplication of genotypes of *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Cerne**, v. 20, p. 139-146, 2014.
- TOMBOLATO, A.F.C.; COSTA, A.M.M. **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas, Instituto Agrônômico. 72p. 1998. (Boletim técnico 174).