

GERMINAÇÃO ASSIMBIÓTICA DE *Cyrtopodium saintlegerianum* RCHB.F (ORCHIDACEAE: CYRTOPODIINAE)

Daniella Mota SILVA¹; Sérgio Tadeu SIBOV¹; Luciano Lajovic CARNEIRO; Juliana KLUTHCOUSKI²

¹ Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas - PGMP

² Instituto de Ciências Biológicas – ICB

e-mail: delela_bio@yahoo.com.br

Palavras-chave: micropropagação, orquídeas, cerrado.

INTRODUÇÃO

O gênero *Cyrtopodium* Rchb.f compreende 42 espécies de origem neotropical distribuídas do sul da Florida até o norte da Argentina. O centro de diversidade do gênero é o Cerrado brasileiro, onde ocorrem pelo menos 28 espécies (Batista & Bianchetti, 2005). São encontradas em ambientes secos, rochosos, mas também em solos úmidos apresentando hábito epífita, rupícola ou terrestre. A espécie *Cyrtopodium saintlegerianum* Rchb.f tem ampla distribuição geográfica no Brasil, é encontrada nos Estados do Pará, Tocantins, Piauí, Bahia, Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais (Barros et al., 2010). Possui hábito epífita e em regiões de Cerrado algumas espécies de palmeiras oferecem boas condições para a germinação e desenvolvimento de orquídeas epífitas. A macaúba do gênero *Acrocomia* é uma destas palmeiras, que frequentemente ostentam orquídeas em seu tronco principalmente do gênero *Cyrtopodium*. A floração ocorre na estação seca, com início em julho até o final de agosto.

A ausência de cotilédones, de endosperma e a pequena quantidade de energia estocada no embrião são algumas características que explicam a dificuldade de reprodução de algumas espécies de orquídeas. Na natureza, há a necessidade da associação das sementes e/ou plântulas a fungos micorrízicos para o sucesso da obtenção de novas plantas (Warcup, 1973). Técnicas de micropropagação para germinação assimbiótica (sem a presença de micorrizas) de sementes de orquídeas

alcançaram grande sucesso na obtenção de mudas em larga escala. Muitos pesquisadores desenvolveram métodos de propagação assimbiótica para efeitos de conservação de plantas (Dutra et al., 2008). O intuito de muitos deles foi desenvolver protocolos específicos e de ação efetiva para o pleno desenvolvimento de diferentes espécies de plantas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a germinação assimbiótica de *C. saintlegerianum* em diferentes meios nutritivos.

MATERIAL E MÉTODOS

As sementes foram obtidas a partir de uma cápsula fechada, polinizada naturalmente, com nove meses de maturação, aproximadamente. A capsula foi desinfestada em solução de etanol 70% (v/v) por 1 minuto e em seguida em solução de hipoclorito de sódio a 20% (v/v) por 20 minutos. Em camara de fluxo laminar, a capsula foi lavada três vezes em água destilada e autoclavada. As sementes foram retiradas da cápsula e inoculadas em quatro meios nutritivos distintos: meio MS (Murashige & Skoog, 1962) (T1); meio MS com metade de macronutrientes (T2); meio Knudson C (T3); meio com formulação simplificada com banana nanica, água de coco, e adubo foliar Peter's 20-20-20 (T4). Cada tratamento foi constituído por 20 frascos de 150 ml, contendo 1 g de sementes cada. Todos os meios foram acrescidos com 30 g.L⁻¹ de sacarose e 7 g.L⁻¹ de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,7 ± 0,1 antes da inclusão do ágar e autoclavados a 120°C a 1 atm, por 20 minutos. Os frascos contendo as sementes foram transferidos para sala de crescimento e mantidos sob temperatura de 24 ± 2°C e fotoperíodo de 16 horas. Os dados obtidos de germinação *in vitro* foram avaliados utilizando análise de variância (ANOVA) e um teste *a posteriori* (Tukey) para evidenciar o efeito de cada tratamento com nível de significância a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O processo de desinfestação e descontaminação da cápsula madura e seu manuseio em ambiente asséptico foram eficientes pois não ocorreram perdas de frascos com meios devido a contaminações fúngicas ou bacterianas. A germinação das sementes de orquídeas, *in vitro* ou natural, tem início com a ruptura do tegumento do embrião e a formação de estruturas esféricas clorofiladas

denominadas protocormos (Arditti, 1967). Na superfície destas estruturas surgem os primórdios foliares e, em seguida, os pêlos absorventes. Os protocormos começam então a aumentar de tamanho até que sejam formadas as primeiras folhas e raízes que resultarão em novas plantas (Kraus et al., 2006).

O início da germinação ocorreu 15 dias após a inoculação, observou-se o intumescimento dos embriões nos tratamentos T1, T2 e T3 e ruptura da testa em 80% dos frascos, no tratamento T4 (meio simplificado) a maior parte da germinação só ocorreu 35 dias após a inoculação. Após 45 dias, todos os frascos apresentaram intumescimento do embrião e presença de rizóides. A hipótese nula ($H_0: T1 = T2 = T3 = T4$) foi rejeitada ($F_{(3,76)} = 73,3; p = 0,00001$). Através do teste *a posteriori* (Tukey) observou-se que apenas o tratamento T4 difere dos demais tratamentos. Em termos práticos os tratamentos T1, T2 e T3 apresentaram efeitos semelhantes para o tempo de germinação. No tratamento T4 a germinação foi mais lenta quando comparada aos outros tratamentos. O desenvolvimento germinativo mais lento deste tratamento pode ser devido à utilização de uma quantidade reduzida de elementos de macro e micronutrientes cuja concentração é menor do que os meios convencionais. Contudo, é de fácil acessibilidade, fácil preparo e de baixo custo.

Outras análises são necessárias para identificar os efeitos dos reguladores de crescimento existentes no processo de germinação. Ramos (2005) ressalta que para algumas espécies nativas baixas concentrações de hormônios apresentaram respostas mais eficientes e melhor desenvolvimento. Sugere-se testar também meios simplificados com formulações de macro e micronutrientes distintos e outros aditivos orgânicos, o que poderia proporcionar melhor aproveitamento das sementes no meio de cultura. Meios simplificados também contribuem para diminuir o tempo de preparo, o custo do material e a dependência das poucas empresas que vendem insumos. A grande quantidade de mudas obtidas permite a seleção de genótipos mais adaptados a condição de vaso e conseqüente domesticação e melhoramento genético visando o mercado da floricultura.

CONCLUSÕES

Os resultados para a espécie *C. saintlegerianum* mostram que as sementes tiveram um bom desenvolvimento germinativo nos tratamentos T1, T2 e T3 (meios tradicionalmente utilizados para diversas espécies de orquídeas) e não

apresentaram diferenças significativas. O tratamento T4 apresentou a germinação mais lenta, porém, após 45 dias, as sementes germinaram em todos os frascos deste tratamento. Em experimentos futuros outros adubos foliares (fontes de macro e micronutrientes) com diferentes concentrações poderão ser testados para observar se a germinação ocorre em menor tempo. Outra alternativa será a adição de reguladores de crescimento nos meios tradicionais para identificar os efeitos destes reguladores no processo de germinação de sementes de *C. saintlegerianum*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARDITTI, J. Factors effecting the germination of orchid sees. **The Botanical Review**, New York, v. 33, n. 1, p. 1-97, 1967.

BARROS, F. de, VINHOS, F., RODRIGUES, V.T., BARBERENA, F.F.V.A., FRAGA, C.N. Orchidaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. 2010. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB025908>).

BATISTA, J. A. N. & BIANCHETTI, L. B. 2005. Two new taxa in *Cyrtopodium* (Orchidaceae) from southern Brazil. **Darwiniana**, v. 43 (1-4): 74-83.

DUTRA, D. **Reproductive biology and asymbiotic seed germination of *Cyrtopodium punctatum*: an endangered Florida native orchid**. 2008. Masters Thesis, University of Florida.

KRAUS, J. E.; KERBAUY, G. B.; MONTEIRO, W. R. Desenvolvimento de protocormos de *Catasetum pileatum* Rchb. f. *in vitro*: aspectos estruturais e conceituais. **Hoehnea**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 177-184, 2006.

KNUDSON, L. A new nutrient solution for the germination of orchid seed. **American Orchid Societ Bulletin**, West Palm Beach, v. 15, n.3, p. 214-217, 1946.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossay with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n. 3, p. 473-497, 1952.

Ramos, T. V. **Micropropagação de *Cattleya mesquिताe* (Orchidaceae) autofecundada: híbrido natural do estado de Goiás**. 2005. 85p Dissertação (Mestrado em Agronomia: Produção Vegetal) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2005.

WARCUP, J. H. Symbiotic germination of some Australian terrestrial Orchids. **New Phytologist**, Oxford, v. 72, n. 1, p. 371-381, 1981.

Órgãos financiadores:

FAPEG – Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Goiás

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior