

EFEITO DE DIFERENTES MEIOS DE CULTURA NA GERMINAÇÃO IN VITRO DE *CARINIANA LEGALIS*

Esdras Mendes da Cunha¹, Katia Aguiar de Souza Monteiro¹, Luiza Costa Silva¹, Elias Terra Werner¹, Milene Miranda Praça Fontes¹.

¹Universidade Federal do Espírito Santo, ES / Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais, Alto Universitário, S/N, Guararema - 29500-000 - Alegre-ES, Brasil, esdrasmbio@gmail.com, katiamonteiro0603@gmail.com, luiza.csilva111@gmail.com, elias.werner@ufes.br, milenemiranda@yahoo.com.br.

Resumo

Este estudo avaliou a germinação in vitro de sementes de *Cariniana legalis* em quatro meios de cultura (MS, MS ½, B5 e WPM), ao longo de 45, 60, 75 e 90 dias. Os resultados demonstraram que os meios MS, MS ½ e WPM promoveram germinação desde os primeiros dias, com variações entre os tratamentos. O meio B5 apresentou germinação tardia e baixa eficiência, indicando menor adequação para a espécie. Entre os meios testados, o MS ½ destacou-se por apresentar a maior taxa de germinação e os menores índices de contaminação, sendo considerado o mais eficiente para a propagação inicial de *C. legalis*. Esses achados reforçam a importância da escolha do meio de cultura na definição de protocolos de conservação e indicam o MS ½ como uma formulação promissora para programas de micropropagação da espécie.

Palavras-chave: Sementes. Jequitibá-rosa. Protocolo.

Área do Conhecimento: Fisiologia.

Introdução

Cariniana legalis (Mart.) Kuntze, conhecida como jequitibá-rosa, é uma das maiores árvores nativas da Mata Atlântica, podendo ultrapassar 50 metros de altura. Sua imponência e longevidade a tornam símbolo de resistência ecológica, sendo frequentemente associada à memória ambiental e cultural do Brasil (Rodrigues et al., 2012). Além de seu papel estrutural na floresta, a espécie contribui para a manutenção da biodiversidade, oferecendo abrigo e alimento para diversas formas de vida (Santos et al., 2025). No entanto, a crescente pressão antrópica, como desmatamento, urbanização e exploração madeireira, tem reduzido drasticamente suas populações naturais, colocando-a em risco de extinção (Myers et al., 2000; Laurence et al., 2014). Estudos indicam que *C. legalis* apresenta crescimento lento e demanda elevada por nutrientes específicos, como cálcio e magnésio, sendo mais sensível a solos pobres ou degradados (Silva et al., 2019). Essa exigência nutricional reforça a importância de estratégias de conservação ex situ, como a micropropagação, que permite o cultivo em condições controladas e adequadas ao seu desenvolvimento.

Diante desse cenário, estratégias de conservação ex situ tornam-se fundamentais para garantir a perpetuação da espécie. A micropropagação, técnica baseada na cultura de tecidos vegetais, permite a multiplicação de indivíduos a partir de explantes em ambiente controlado, com alta taxa de sucesso e independência das condições ambientais externas (Oliveira et al., 2013). Essa abordagem é especialmente relevante para espécies arbóreas ameaçadas, cujas sementes apresentam baixa viabilidade ou germinação irregular (Brancalion; Novembre; Rodrigues, 2010). A germinação in vitro é uma etapa crítica nesse processo, pois define a eficiência inicial do protocolo e influencia diretamente o desenvolvimento subsequente das plântulas (Soares et al., 2009).

A escolha do meio de cultura é um dos fatores determinantes para o sucesso da germinação *in vitro*. O meio MS (Murashige & Skoog, 1962) é amplamente utilizado por sua composição rica em sais minerais e vitaminas, favorecendo o crescimento de diversas espécies (Schneiders et al., 2012). Sua versão diluída, contendo metade da concentração (MS ½), é indicada para sementes sensíveis ao excesso de sais, reduzindo o estresse osmótico (Simões et al., 2018). O meio B5 (Gamborg; Miller;

Ojima, 1968), desenvolvido para culturas de células de soja, possui menor concentração de nitrato e pode favorecer a germinação de espécies com metabolismo diferenciado (Silva et al., 2020). Já o WPM (Lloyd & McCown, 1980) foi formulado especificamente para plantas lenhosas, apresentando equilíbrio nutricional adaptado às exigências de espécies arbóreas, o que o torna promissor para o cultivo de *C. legalis* (Soares et al., 2009).

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito de quatro meios de cultura comumente utilizados, na germinação *in vitro* de sementes de *C. legalis*. A hipótese central é que o meio WPM, por ser desenvolvido para espécies lenhosas, proporcionará maior taxa de germinação e melhor desenvolvimento inicial das plântulas, em comparação aos demais. Os resultados esperados poderão subsidiar a elaboração de protocolos eficientes de propagação *in vitro*, contribuindo para programas de conservação e restauração da Mata Atlântica.

Metodologia

Foram testados quatro meios de cultura: MS, MS ½, B5 e WPM. Todos os meios foram suplementados com sacarose a 3% (p/v) como fonte de carbono, solidificados com ágar a 0,75% (p/v) e ajustados para pH 5,8 ($\pm 0,1$) antes da autoclavagem a 121 °C por 20 minutos. Nenhum regulador de crescimento foi adicionado, visando avaliar exclusivamente o efeito da composição basal dos meios na germinação (Aragão et al., 2016).

As sementes de *C. legalis* foram coletadas de matrizes adultas *in situ* na Floresta Nacional de Pacotuba no município de Cachoeiro de Itapemirim – ES. Posteriormente, as sementes foram submetidas a protocolo de desinfestação em capela de fluxo laminar. Ao todo, foram utilizadas 600 sementes, distribuídas em quatro tratamentos com 150 unidades cada. Cada repetição consistiu em um tubo de ensaio (25 mm $\times$ 10 cm) contendo uma única semente. O processo consistiu em lavagem inicial com água corrente por 5 minutos, seguida de imersão em solução de álcool 70% por 1 minuto e posterior tratamento com hipoclorito de sódio a 2,5% por 1 hora, com cinco enxágues subsequentes em água destilada autoclavada (Aragão et al., 2016).

Após a desinfestação, as sementes foram individualmente inoculadas em tubos de ensaio de 25 $\times$ 150 mm, contendo 10 mL do meio de cultura correspondente. Para cada tratamento, foram preparados 150 tubos (repetições), totalizando 600 unidades experimentais. Os tubos foram mantidos em sala de crescimento com temperatura constante de 25 $\pm$ 2 °C, fotoperíodo de 16 horas de luz e intensidade luminosa de aproximadamente 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias (Aragão et al., 2016; Simões et al., 2018).

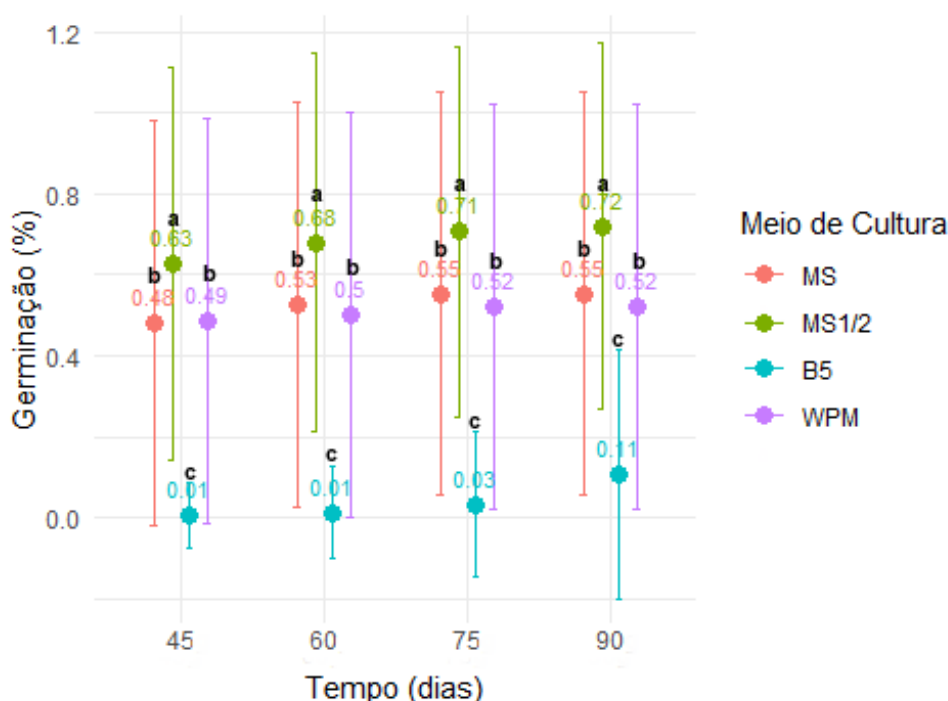
As avaliações foram realizadas aos 45, 60, 75 e 90 dias após a semeadura (dps) *in vitro*. Em cada intervalo, foram registrados dois parâmetros: (i) taxa de germinação, definida como o percentual de sementes que apresentaram emissão de radícula visível; e (ii) taxa de contaminação, considerando a presença de microrganismos visíveis no meio ou na superfície da semente. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística em três etapas. Inicialmente, aplicou-se o teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos dados. Como os resultados indicaram ausência de distribuição normal ($p < 0,05$ no teste de Shapiro-Wilk), optou-se por utilizar o teste de Kruskal-Wallis, uma alternativa não paramétrica para comparação entre grupos independentes. Quando o teste de Kruskal-Wallis indicou diferenças significativas, procedeu-se com o teste de Dunn para comparações múltiplas entre os grupos, com ajuste dos valores de p pelo método de Bonferroni, para controle do erro tipo I. As análises foram realizadas separadamente para os fatores “meio de cultura” e “tempo de incubação”.

Resultados

Os resultados referentes ao meio de cultura revelaram diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. O meio MS½ destacou-se com a maior taxa de germinação, chegando a atingir 72% de germinação, enquanto os meios MS e WPM tiveram desempenho intermediário e estatisticamente semelhante entre si (Figura 1). A avaliação da germinação ao longo do tempo (45, 60, 75 e 90 dps) não revelou diferenças estatisticamente significativas entre os períodos analisados, indicando que o tempo não foi um fator determinante para o sucesso germinativo.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

Figura 1 – Taxa de germinação de *Cariniana legalis* em diferentes meios de cultura (MS, MS ½, B5 e WPM) ao longo de 45, 60, 75 e 90 dias. As barras representam a média de germinação (%) por tratamento, com desvio padrão (n = 150). O meio MS ½ apresentou os maiores índices de germinação e os menores níveis de contaminação ao longo do experimento, destacando-se como o mais eficiente. Teste de Kruskal-Wallis seguido de Dunn com correção de Bonferroni $p < 0,05$).

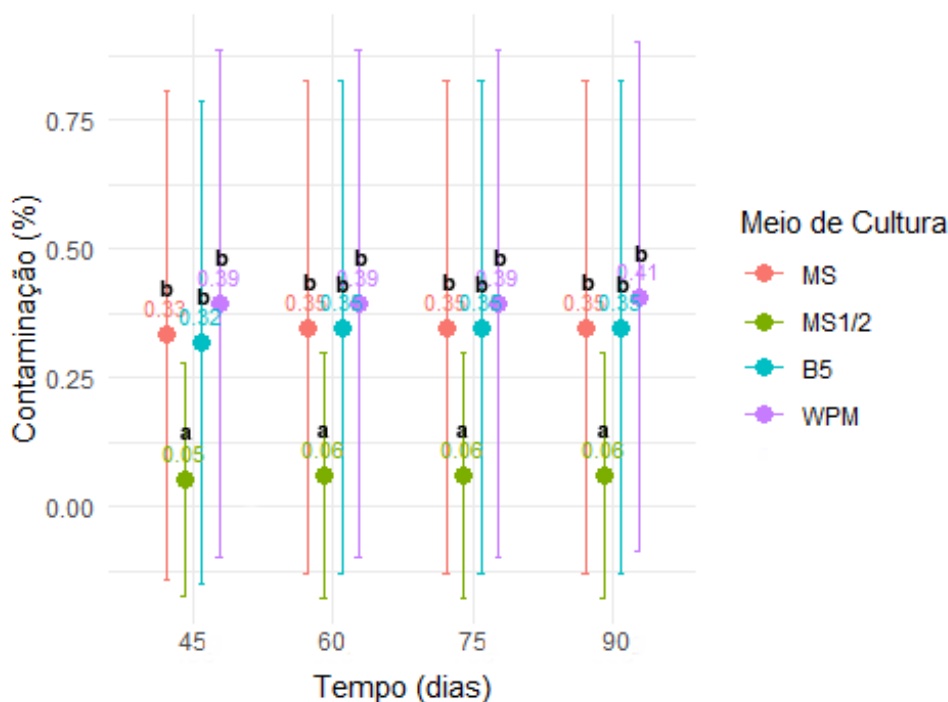


Fonte: o autor (2025).

A análise estatística dos dados de contaminação evidenciou diferenças significativas entre os meios de cultura testados. O meio MS½ apresentou os menores índices de contaminação, diferindo significativamente dos demais (letra “a”), conforme o teste de Dunn. Os meios MS, B5 e WPM não apresentaram diferenças estatísticas entre si, sendo agrupados sob a letra “b”. Esses achados reforçam a eficácia do meio MS½ na redução da contaminação dos explantes (Figura 2).

Figura 2 – Taxa de contaminação in vitro de *Cariniana legalis* em diferentes meios de cultura (MS, MS ½, B5 e WPM) ao longo de 45, 60, 75 e 90 dias. As barras representam a média de contaminação (%) por tratamento, com desvio padrão (n = 150). O meio MS ½ apresentou os menores índices de contaminação em todos os tempos avaliados, ($p < 0,05$; teste de Kruskal-Wallis seguido de Dunn com correção de Bonferroni). Os meios MS, B5 e WPM não diferiram entre si.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO



Fonte: o autor (2025).

Discussão

Quanto à variável tempo, os dados indicaram ausência de diferenças estatísticas significativas entre os grupos avaliados, com valores de p ajustado iguais a 1 em todas as comparações. Embora tenha apresentado pequenas oscilações nos níveis de contaminação entre os tempos, essas variações não foram suficientes para configurar impacto estatístico relevante. Assim, os resultados indicam que o meio de cultura exerce influência direta sobre os níveis de germinação e contaminação, enquanto o tempo de avaliação não afeta significativamente esses parâmetros nas condições testadas.

Os resultados obtidos revelam uma relação importante entre o tipo de meio de cultura utilizado e o desempenho das sementes de *Cariniana legalis* em condições in vitro, tanto em termos de germinação quanto de contaminação. O meio MS $\frac{1}{2}$ destacou-se como o mais eficiente, apresentando maior taxa de germinação e menor incidência de contaminação ao longo dos períodos avaliados. Essa performance pode estar relacionada à menor concentração de sais, que reduz o estresse osmótico sobre as sementes, favorecendo a absorção de água e a ativação metabólica necessária para a germinação (George; Hall; De Klerk, 2008). Além disso, a menor carga nutricional pode dificultar o desenvolvimento de microrganismos contaminantes, como também observado por Silva et al. (2019).

Em contraste, o meio WPM, embora originalmente formulado para espécies lenhosas, apresentou as maiores taxas de contaminação e eficiência germinativa mediana. Apesar de sua composição conter vitaminas e compostos orgânicos que favorecem o desenvolvimento de tecidos vegetais, esses mesmos componentes podem ter estimulado o crescimento de microrganismos oportunistas, comprometendo o ambiente asséptico necessário para o desenvolvimento das plântulas (Cordeiro et al., 2013). Além disso, sementes de *Cariniana legalis* parecem não responder de forma harmônica à composição nutricional do WPM, possivelmente devido à menor concentração de sais e à ausência de elementos como cálcio e magnésio em níveis adequados, essenciais para espécies com exigência nutricional elevada (Silva et al., 2019). Esses fatores podem ter limitado a germinação e contribuído para o desempenho inferior observado nesse meio.

O meio MS apresentou desempenho intermediário, com taxas de germinação consistentes, porém inferiores ao MS $\frac{1}{2}$, e níveis de contaminação mais elevados. Essa resposta pode estar relacionada à sua alta concentração de sais, que embora favoreça o crescimento inicial, pode gerar estresse osmótico

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

em sementes sensíveis, como as de *Cariniana legalis* (George et al., 2008). Já o meio B5, tradicionalmente utilizado em culturas celulares, mostrou-se pouco eficiente para germinação, possivelmente devido à sua formulação com menor concentração de nitrato e ausência de componentes essenciais ao desenvolvimento embrionário (Gamborg, Miller, Ojima, 1968). Esses resultados indicam que a composição iônica e o equilíbrio nutricional do meio são determinantes para o sucesso da germinação in vitro, especialmente em espécies nativas com exigências fisiológicas específicas.

Conclusão

Os resultados obtidos neste estudo indicam que o meio MS $\frac{1}{2}$ é o mais promissor para a germinação in vitro de sementes de *C. legalis*, apresentando a maior taxa germinativa e a menor incidência de contaminação entre os meios testados. A análise estatística, realizada por meio do teste de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn, confirmou diferenças significativas entre os tratamentos, corroborando as variações visuais observadas.

Esses achados reforçam a importância da adequação nutricional do meio de cultura às exigências fisiológicas da espécie, especialmente em protocolos voltados à conservação de plantas nativas ameaçadas. Os dados obtidos fornecem subsídios relevantes para o desenvolvimento de protocolos eficientes de micropropagação de *C. legalis*, contribuindo para estratégias de conservação *ex situ* e produção de mudas destinadas a programas de restauração ecológica.

Referências

- ARAGÃO, V. P. M.; RIBEIRO, Y. R. D. S.; REIS, R. S.; MACEDO, A. F.; FLOH, E. I. S.; SILVEIRA, V.; SANTA-CATARINA, C. In vitro organogenesis of *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae): the involvement of endogenous polyamines and carbohydrates on shoot development. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 124, n. 3, p. 611–620, 2016.
- BRANCALION, P. H. S.; COELHO NOVENBRE, A. D. L.; RODRIGUES, R. R. Temperatura ótima de germinação de sementes de espécies arbóreas brasileiras. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 4, p. 193–200, 2010.
- CORDEIRO, L.; GOMES, F. P.; SILVA, D. T.; LIMA, J. C. S.; BARROS, C. F. Multiplicação in vitro de *Eucalyptus globulus* Labill. em diferentes meios de cultura. **Scientia Forestalis**, v. 41, n. 103, p. 311–318, 2013.
- GAMBORG, O. L.; MILLER, R. A.; OJIMA, K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. **Experimental Cell Research**, v. 50, p. 151–158, 1968.
- GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; DE KLERK, G.-J. **Plant propagation by tissue culture**. 3. ed. Dordrecht: Springer, 2008.
- LLOYD, G.; MCCOWN, B. H. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Proceedings of the International Plant Propagators Society**, v. 30, p. 421–427, 1980.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473–497, 1962.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853–858, 2000.

OLIVEIRA, L. S.; DIAS, P. C.; BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 33, n. 76, p. 439–453, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4336/2013.pfb.33.76.481>.

RODRIGUES, B. P.; SILVA, M. A.; COSTA, J. R.; OLIVEIRA, R. M. *Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze (Lecythidaceae): descrição dendrológica e anatômica. **Conhecer**, v. 2, n. 2, p. 1–12, 2012.

SANTOS, A. S.; LEAL, J. B.; CORRÊA, R. X.; GRAMACHO, K. P.; GAIOTTO, F. A. The role of cacao agroforests in the genetic conservation of *Cariniana legalis*, an emblematic species of the Atlantic Forest. **BMC Ecology and Evolution**, v. 25, art. 89, 2025. Disponível em: <https://bmcecolevol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12862-025-02418-3>. Acesso em: 20 set. 2025.

SCHNEIDERS, D.; SILVA, J. M.; COSTA, L. P.; SOUZA, R. M. Germinação, crescimento e desenvolvimento in vitro de orquídeas (*Cattleya* spp.). **Revista Ceres**, v. 59, n. 2, p. 123–130, 2012.

SILVA, R. A.; LIMA, F. C.; OLIVEIRA, J. M. Exigências nutricionais de espécies arbóreas nativas em solos tropicais: o caso do jequitibá-rosa (*Cariniana legalis*). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 43, e0190023, 2019.

SILVA, T. C. da; OLIVEIRA, M. S.; GOMES, R. F.; PEREIRA, L. A. Contaminação em culturas in vitro de espécies florestais: causas e estratégias de controle. **Revista Brasileira de Biotecnologia**, v. 22, n. 3, p. 45–52, 2019.

SILVA, T. L.; ALMEIDA, M.; SOUZA, A. V.; SANTOS, M. G. Efeito de diferentes meios de cultura na germinação in vitro de sementes de *Cedrela fissilis* Vell. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 18, n. 2, p. 123–130, 2020.

SIMÕES, A. C.; LIMA, R. M.; OLIVEIRA, T. S. Efeito de diferentes meios de cultura na germinação in vitro de sementes florestais. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 1, p. 101–109, 2018.

SIMÕES, I. M.; FERREIRA, L. S.; COSTA, R. M.; OLIVEIRA, J. P. Germinação in vitro de sementes de braúna em diferentes meios de cultura. **Anais do INIC**, Univap, 2018.

SOARES, F. P.; SILVA, M. A.; OLIVEIRA, R. T.; COSTA, J. R. Efeito de meios de cultura, concentrações de GA₃ e pH sobre a germinação in vitro de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 1896–1902, 2009.

Agradecimentos

O presente trabalho contou com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por meio da concessão de bolsa, do subsídio de ajuda de custo (proap) concedido pela Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo, processo 23068.039856/2024-71; e do financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Processo: 407447/2023-7.