

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

NITROPRUSSIATO DE SÓDIO NO ARMAZENAMENTO DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS ENCAPSULADOS DE *Euterpe edulis*

Mariana Ribeiro de Almeida¹, Eduardo Santos Cade¹, Joana Silva Costa²,
Débora Pellanda Fagundes¹, Tamiris de Mello², José Carlos Lopes¹, Rodrigo
Sobreira Alexandre²

¹Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alto
Universitário, s/nº, Guararema, 29500-000, Alegre - ES, Brasil, mariribeiro11@hotmail.com,
eduardo.cade@edu.ufes.br, debora.pellanda@yahoo.com.br, jclufes@gmail.com

²Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias/Departamento de
Ciências Florestais e da Madeira, Avenida Governador Lindemberg, 316, Centro, 29550-000,
Jerônimo Monteiro - ES, Brasil, joanasilvacosta9@hotmail.com, tamyrisdemello@gmail.com,
rodrigossobreiraalexandre@gmail.com

Resumo

Euterpe edulis, mais conhecida como juçara, pode ser encontrada em toda Floresta Atlântica. Sendo bastante procurada pelo sabor de seu palmito, além disso, seu fruto apresenta elevado teor de compostos com propriedades antioxidantes. Essa espécie é classificada como recalcitrante quanto a dessecação do embrião, o que dificulta o seu armazenamento. Objetivou-se com esse trabalho realizar o armazenamento de embriões zigóticos a partir do encapsulamento com diferentes concentrações de nitroprussiato de sódio (SNP). Para a realização desse trabalho, os embriões de *E. edulis* depois de extraídos das sementes, foram encapsulados utilizando alginato de sódio 2% suplementado com diferentes concentrações de SNP (0; 50; 100; 150 µM), e cloreto de cálcio (CaCl₂) 100 mM, e armazenados nos tempos 0, 15 e 30 dias. O tratamento controle apresentou o melhor resultado na germinação, concluindo que o encapsulamento e o acréscimo de SNP não se mostrou eficaz para o armazenamento das sementes dessa espécie.

Palavras-chave: Conservação. Juçara. Óxido nítrico.

Área do Conhecimento: Engenharia Agrônoma - Engenharia Florestal

Introdução

A palmeira juçara (*Euterpe edulis* Martius) é encontrada naturalmente por todo território da Floresta Atlântica, com grande importância ambiental e econômica pelo consumo do palmito, assim como do seu fruto, o qual apresenta uma composição química de bastante interesse pela presença considerável de ácidos fenólicos e flavonoides, esses são compostos que apresentam propriedades antioxidantes (BORGES et al., 2011).

Devido a superexploração dessa palmeira para o consumo de seu palmito, atualmente, essa espécie ainda se encontra inclusa nas espécies consideradas vulneráveis a extinção (MMA, 2022). Essa situação é dada devido a morte do indivíduo quando há a retirada do palmito, visto que essa espécie é caracterizada por possuir um único estipe, sem a possibilidade de rebrota.

A única fonte de propagação natural dessa espécie é semínifera, além disso, suas sementes são classificadas como recalcitrante (PANZA; LAÍNEZ; MALDONADO, 2004). Desse modo, a pouca tolerância a perda de água acarreta as sementes a perderem a viabilidade facilmente, sendo um empecilho para o seu armazenamento desse material vegetal.

O nitroprussiato de sódio pode ser utilizado para auxiliar na conservação de sementes durante o armazenamento, mantendo sua viabilidade por mais tempo. Pois estimula a atividade da enzima

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

superóxido dismutase (SOD), sendo um doador de óxido nítrico (PEREIRA, 2010), por conseguinte, atua amenizando o efeito das espécies reativas de oxigênio.

Objetivou-se com este trabalho realizar um armazenamento de embriões zigóticos encapsulados de *E. edulis*, com diferentes concentrações de SNP visando a conservação desses embriões por um maior período.

Metodologia

As sementes de juçara foram colhidas manualmente no distrito de Pedra Menina, com coordenadas 20°32'45,4" S, 41°49'35,7" W e altitude de 951 m, localizado nas proximidades do Parque Nacional do Caparaó. Após colhidas, foram conduzidas ao Laboratório de Sementes Florestais e Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE/UFES).

Ao chegarem no laboratório, houve uma higienização prévia das sementes, utilizando detergente líquido e hipoclorito de sódio 2,5% (NaClO) (QBoa®). Em seguida, retirou-se o seu tegumento e foram imersas em ácido ascórbico 2% (m/v) para evitar a oxidação.

Em câmara de fluxo laminar, ambiente estéril, foi realizada a desinfestação das sementes desprovidas de tegumento, a qual consistiu na imersão desse material em álcool 70° por um min, imersão em NaClO (QBoa®) a 2,5% (v/v) por 10 min, com agitação constante, depois do período de tempo determinado, foi feita a tríplex lavagem com água destilada e autoclavada, e após esse processo, as sementes foram imersas em uma solução de amoxicilina 3 g L⁻¹ (Germed®) também pelo mesmo período de tempo da solução anterior, e por fim, tríplex lavagem com água destilada e autoclavada.

Ainda no ambiente estéril, os embriões foram excisados com auxílio de pinça e bisturi, e submergidos em uma solução de ácido ascórbico 1% (m/v) para conter a oxidação. Em seguida, foram encapsulados, para realizar esse procedimento, os embriões foram adicionados em uma solução contendo alginato de sódio (Sigma®) a 2% (m/v), polivinilpirrolidona (PVP) (Synth®) 1 g L⁻¹ e SNP (Neon®) nas concentrações 0, 50, 100 e 150 µM e pipetados em uma solução de cloreto de cálcio (CaCl₂) 100 mM por 25 min, para haver a polimerização total da capsula.

Após o processo de encapsulamento, os embriões foram acondicionados em potes de vidro autoclavados, e armazenados em incubadora de demanda bioquímica de oxigênio (BOD) regulada a 18 °C, no escuro.

A cada tempo de armazenamento os embriões encapsulados foram retirados do armazenamento, e na câmara de fluxo laminar, foram submersos em uma solução de KNO₃ 200 mM por 25 min, para que a capsula fosse descomplexada. Em seguida, esses embriões foram colocados para germinar, em tubos de ensaios contendo 10 mL de meio de cultura MS (MURASHIG; SKOOG, 1962) acrescido de sacarose 30 g L⁻¹, PVP 1 g L⁻¹, mio-inositol 0,1 g L⁻¹. O pH da solução foi ajustado em 5,7 ± 0,1, ao adicionar hidróxido de potássio (KOH) 0,1 M ou ácido clorídrico (HCl) 1 M, em seguida adicionou-se ágar-ágar a 5,5 g L⁻¹. Foram mantidos em sala de crescimento a 27 ± 2 °C, no escuro.

O trabalho foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado com parcelas subdivididas no tempo (0, 15, 30 dias) com concentrações de SNP (0, 50, 100, 150 µM), e controle (sem armazenamento e sem encapsulamento), com quatro repetições de dez embriões cada. Foi avaliado germinação (BRASIL, 2009) (%) e variáveis de vigor, que são índice de velocidade de germinação (IVG) (MAGUIRE, 1962) e tempo médio de germinação (TMG – dias) (LABORIAU, 1983). Os dados foram submetidos a análise de variância, e teste de Tukey ($p < 0,05$), com auxílio do software R (R CORE TEAM, 2023).

Resultados

Os embriões zigóticos foram encapsulados e armazenados de acordo com os tratamentos pré-estabelecidos (SNP 0, 50, 100, 150 µM, nos tempos 0, 15, 30 dias). No tempo zero dias (Tabela 1), a maior média de germinação (60%) foi no tratamento controle, em que não houve o encapsulamento, porém o maior IVG foi no tratamento encapsulado com ausência de SNP. Contudo, quando o SNP foi acrescentado no encapsulamento, independente da concentração, o resultado da germinação foi menor quando comparado com o SNP 0 e o controle.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

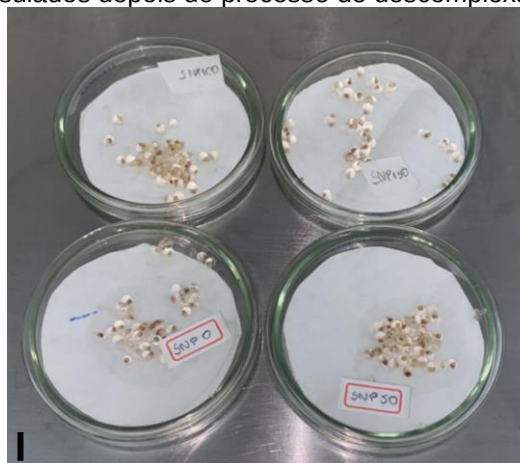
Tabela 1 – Valor médio de germinação (%); índice de velocidade de germinação – IVG; tempo médio de germinação (dias) – TMG, de embriões encapsulados (SNP 0, 50, 100, 150 μ M) e não encapsulados (controle) de *Euterpe edulis* no tempo 0 dias (T0)

Tratamentos	Germinação (%)	IVG	TMG (dias)
T0 - controle	60,0 a ¹	0,27 a	13,00 b
T0 - SNP 0	40,0 ab	0,28 a	21,37 a
T0 - SNP 50	15,0 b	0,17 b	19,48 a
T0 - SNP 100	17,5 b	0,11 c	15,75 b
T0 - SNP 150	12,5 b	0,12 c	22,00 a

¹Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de tukey ($p>0,05$). Fonte: produção do próprio autor.

Nos tempos de armazenamento de 15 dias (Figura 1) e 30 dias, a oxidação e contaminação foram extremamente alta, aproximadamente 85 e 95% respectivamente, não sendo possível contabilizar os dados da germinação.

Figura 1 – Embriões encapsulados depois do processo de descomplexação no tempo de 15 dias



Barra de escala: 1 cm. Fonte: produção do próprio autor.

Discussão

A taxa germinativa foi maior no tratamento controle, ou seja, o encapsulamento não contribuiu positivamente para a conservação e germinação dessa espécie. Em um trabalho realizado com embriões somáticos de *Piper hispidinervium*, conhecida como pimenta longa, constatou que o acréscimo de meio de cultura MS no encapsulamento, possibilitou significativamente o aumento da conversão desses embriões em plântulas, quando comparado com a não utilização do meio (PEREIRA, 2008). Em outro estudo, realizado com *Acacia hybrid*, mostrou que independente da concentração de alginato de sódio e de CaCl_2 , ocorreu alta taxa germinativa (ASMAH et al., 2011).

A presença de SNP pode ser responsável pela diminuição de espécies reativas de oxigênio (O_2^-), além da diminuição da permeabilidade da membrana. Pires et al. (2016), demonstraram que sementes de *Sesamum indicum* L. quando expostas ao cádmio, há uma diminuição na redução da germinação, em que a utilização de SNP reverteu parcialmente os danos que foram gerados por esse metal pesado, isso acontece devido ao aumento da ativação de enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD). Porém no presente estudo, o resultado não foi semelhante, visto que mesmo no tempo 0, ao

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

acrescentar SNP ao encapsulamento (em todas as concentrações estudadas) foi observado uma diminuição drástica da germinação, quando comparado com o tratamento controle e com o encapsulamento com a ausência de SNP.

Conclusão

O tratamento sem a realização do encapsulamento mostrou melhor resultado germinativo, concluindo que o encapsulamento e a adição de SNP não foi eficaz para o armazenamento de embriões zigóticos de *Euterpe edulis*. Mostrando-se necessário a realização de novos estudos para que seja elaborado um protocolo eficaz de armazenamento dessa espécie.

Referências

- ASMAH, H. N. et al. 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.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. MAPA/DAS/ACS. 395p. 2009.
- BORGES, S. C.; VIEIRA, F. G. K.; COPETTI, C. GONZAGA, L. V; ZAMBIAZI, R. C.; MANCINE, J.; FETT, R. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2128-2133, 2011.
- LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 174p.
- MMA. Ministério do meio ambiente – MMA. 2022. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/2020/P_mma_148_2022_altera_a_nexos_P_mma_443_444_445_2014_atualiza_especies_ameacadas_extincao.pdf.
- MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, p. 176-177, 1962.
- PANZA, V.; LAÍNEZ, V.; MALDONADO, S. Seed structure and histochemistry in the palm *Euterpe edulis*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 145, p. 445-453, 2004.
- PEREIRA, B. L. C. et al. Influence of nitric oxide on the germination of seeds of *Plathymenia reticulata* Benth with low vigor. **Scientia Forestalis**, v. 38, n. 88, p. 629-636, 2010.
- PEREIRA, J. E. S. et al. Composição da matriz de encapsulamento na formação e conversão de sementes sintéticas de pimenta-longa. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 93-96, 2008.
- PIRES, R. M. O. et al. Ação protetora do óxido nítrico em sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) permanece ao estresse por cádmio. **Journal of Seed Science**, v. 38, p. 22-29, 2016.
- R CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <<https://www.rproject.org/>>. Acesso em: 10 jul. 2023.

Agradecimentos

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) (EDITAL FAPES Nº 04/2021 - TAXA DE PESQUISA, Protocolo: 45837.716.19068.15062021, EDITAL FAPES Nº 08/2021 - MANUTENÇÃO DE EQUIPAMENTOS, Protocolo: 47183.729.19068.22092021), EDITAL

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

FAPES Nº 21/2022 APOIO À INFRAESTRUTURA DE PESQUISA, DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO EM LABORATÓRIOS INTERDISCIPLINARES, Protocolo: 51781.798.19068.30092022, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de produtividade em pesquisa e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - código financeiro 001, pelo apoio financeiro.