

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

ARMAZENAMENTO DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS ENCAPSULADOS DE *Euterpe edulis*

Mariana Ribeiro de Almeida¹, Eduardo Santos Cade¹, Joana Silva Costa²,
Ingridh Medeiros Simões², Simone Wellita Simão de Carvalho¹, Tamyris de
Mello², 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, simonewellita@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, simoes.ingridh@gmail.com,
tamyrisdemello@gmail.com, rodrigossobreiraalexandre@gmail.com

Resumo

Euterpe edulis, conhecida popularmente como juçara, é uma palmeira classificada como vulnerável a extinção, devido a superexploração do palmito, visto que não há o perfilhamento de sua estipe. Apresenta como única fonte natural de propágulo a semente, tendo germinação lenta e desuniforme, além disso, é recalcitrante. Objetivou-se com esse estudo realizar o armazenamento de embriões zigóticos encapsulados de *Euterpe edulis*, utilizando nitroprussiato de sódio (SNP) para a preservação desses embriões. Para a realização desse trabalho, os embriões de *E. edulis* foram encapsulados utilizando alginato de sódio 2%, suplementado com SNP (0 ou 10 µM), e cloreto de cálcio (CaCl₂) 100 mM. O tratamento controle teve a maior média de germinação, bem como melhores médias de vigor. Desse modo, conclui-se que o encapsulamento e a utilização do SNP para o armazenamento de embriões dessa espécie não foram viáveis.

Palavras-chave: Óxido nítrico. Juçara. Conservação.

Área do Conhecimento: Engenharia Agrônômica - Engenharia Florestal

Introdução

Juçara, como é popularmente conhecida, é uma palmeira pertencente à família Arecaceae e denominada cientificamente como *Euterpe edulis* Martius. É considerada uma espécie monocaule, ou seja, sua estipe não perfilha (BRANCALION et al., 2012).

Essa espécie apresenta distribuição geográfica por toda extensão da Floresta Atlântica (ENDERSON et al., 1995; LEAL et al., 2021). Porém com a superexploração do seu palmito, houve a sua inserção na lista de espécies vulneráveis a extinção (MARTINELLI; MORAES, 2013), visto que, a retirada do palmito acarreta a sua morte.

E. edulis apresenta uma germinação lenta e heterogênea, tendo como única fonte de propágulo suas sementes. Aliado a essa problemática, essa espécie é considerada recalcitrante, ou seja, apresentam pouca tolerância a dessecação do seu embrião a baixos teores de água (PANZA; LAÍNEZ; MALDONADO, 2004) prejudicando consideravelmente o armazenamento viável dessa espécie.

Tendo em vista essas dificuldades, nesse trabalho se propôs realizar o armazenamento de embriões zigóticos de *E. edulis* encapsulados, utilizando o nitroprussiato de sódio (SNP) como doador de óxido nítrico, com a finalidade desse sal auxiliar na conservação e posterior germinação desses embriões encapsulados.

Metodologia

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

As sementes de *E. edulis* foram colhidas 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. As mesmas foram colhidas manualmente e conduzidas ao Laboratório de Sementes Florestais e Laboratório Cultura de Tecidos Vegetais do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA/UFES).

Ao chegarem no laboratório, as sementes foram previamente higienizadas com detergente líquido e hipoclorito de sódio 2,5% (NaClO) (QBoa®). Em seguida, o seu tegumento foi retirado e as sementes imersas em ácido ascórbico 2% (m/v) para evitar a oxidação.

Na câmara de fluxo laminar foi feita a desinfestação, a qual consistiu na imersão desse material em álcool 70° por um min, seguida da imersão em NaClO (QBoa®) a 2,5% (v/v) por 10 min, com agitação constante, depois do período de tempo determinado, foi feita a tríplice 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, tríplice lavagem com água destilada e autoclavada.

No mesmo ambiente estéril, os embriões foram retirados com auxílio de pinça e bisturi, os quais foram flambados para evitar contaminação. Os embriões foram então submergidos em uma solução de ácido ascórbico 1% (m/v) para que eles não oxidassem.

Para realizar o procedimento de encapsulamento, 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®) (0 ou 10 µM), e pipetados em uma solução de cloreto de cálcio (CaCl₂) 100 mM por 25 min, para completa polimerização da capsula.

Após esse processo, os embriões encapsulados foram armazenados em potes de vidro autoclavados, em intervalos de 30 dias, totalizando 420 dias de armazenamento, de modo que foram mantidos em incubadora de demanda bioquímica de oxigênio (BOD) regulada em 18 °C, no escuro.

A cada intervalo, os embriões foram retirados do armazenamento e na câmara de fluxo laminar foram colocados em uma solução de nitrato de potássio (KNO₃) 200 mM por 25 min, para descomplexação da capsula.

Por fim, esses embriões foram colocados para germinar em tubos de ensaios contendo 10 mL de meio de cultura MS (MURASHIG; SKOOG, 1962) (Sigma®), acrescido de sacarose (Dinâmica®) 30 g L⁻¹, PVP (Synth®) 1 g L⁻¹, mio-inositol (Sigma®) 0,1 g L⁻¹. O pH foi ajustado para 5,7 ± 0,1, com o acréscimo de hidróxido de potássio (KOH) 0,1 M ou ácido clorídrico (HCl) 1 M e posterior adição de e ágar-ágar (Dinâmica®) 5,5 g L⁻¹.

O experimento foi acondicionado em sala de crescimento a 27 ± 2 °C no com fotoperíodo de 8/16 horas de luz/escuro, intensidade luminosa de 30 µmol m⁻² s⁻¹ até a obtenção de plântulas. 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).

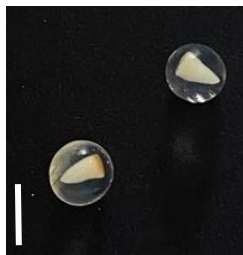
O trabalho foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado com parcelas subdivididas no tempo (0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330, 360, 390, 420 dias) com ausência ou presença de SNP (10 mM), e controle (embriões sem encapsulamento), com quatro repetições de 10 embriões cada. 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 apresentaram viáveis após o encapsulamento para o armazenamento, sem quaisquer sinais de oxidação (Figura 1).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Figura 1 – Embriões zigóticos de *E. edulis* após o encapsulamento.



Barra de escala: 0,5 cm. Fonte: produção do próprio autor.

O tratamento controle teve a maior média de germinação (89,68%), o maior IVG (0,5547), o menor TMG (9,17 dias), e ausência de contaminação, comparado com os demais tratamentos (Tabela 1). Já quando se compara os tratamentos SNP (0 μ M) com SNP (10 μ M), quase não há diferença nessas mesmas variáveis (Tabela 1).

Tabela 1 – Valor médio de germinação (%); índice de velocidade de germinação – IVG; tempo médio de germinação (dias) – TMG; não germinaram (%); contaminação (%), de embriões de *Euterpe edulis*, encapsulados e não encapsulados (controle) no tempo 0 dias (T0).

Tratamento	Germinação (%)	IVG	TMG (dias)	Não Germinaram (%)	Contaminação (%)
T0 – controle	89,68 a ¹	0,5547 a	9,17 b	10,32 b	0 c
T0 – SNP 0	77,50 b	0,4163 c	17,41 a	15,00 a	7,50 b
T0 – SNP 10	75,00 c	0,4987 b	18,13 a	10,00 b	15 a

Fonte: produção do próprio autor.

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

No tempo de 30 dias, ao colocar os embriões encapsulados para descomplexar, foi possível identificar que o tratamento com 10 μ M de SNP teve menor oxidação quando comparado com o tratamento com ausência de SNP (Figura 2). Contudo, ao serem estabelecidos, houve 0% de germinação em ambos os tratamentos.

Figura 2 – Embriões encapsulados de *E. edulis*, depois de serem descomplexados após 30 dias de armazenamento.



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

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Nos outros tempos de armazenamentos, houve 100% de oxidação e consequente morte ou contaminação dos embriões encapsulados de *E. edulis*, logo, também não houve germinação nesses tratamentos.

Discussão

O controle foi responsável pela maior germinação, IVG e menor TMG, provavelmente devido ao encapsulamento que propiciou uma maior contaminação, comparado aos demais tratamentos no tempo zero.

Um estudo realizado com *Butia capitata*, fez-se o encapsulamento de embriões com a finalidade de protegê-los do congelamento, porém foi constatado que o encapsulamento não desempenhou essa função durante o processo de congelamento (GUTERRES, 2019). Assim como, o encapsulamento de embriões zigóticos com a presença ou ausência de SNP não protegeu o embrião no armazenamento, gerando oxidação total, quando foram estabelecidos, nos tempos subsequentes ao zero.

Em trabalhos com utilização de SNP em sementes, pode observar que esse sal auxiliou na diminuição da permeabilidade de membrana, assim como estimulou a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) (PEREIRA, 2010), a qual está relacionada com a dismutação da espécie reativa de oxigênio, o radical superóxido em em peróxido de hidrogênio. O mesmo não pode ser visualizado nesse estudo, já que houve 100% de oxidação quando expostos a um armazenamento mínimo de 30 dias.

Conclusão

O encapsulamento e a adição de SNP nesse processo, não promoveram o armazenamento viável desses embriões de *E. edulis*, sendo necessário novos estudos.

Referências

BRANCALION, P. H. S et al. Soil-mediated effects on potential *Euterpe edulis* (Arecaceae) fruit and palm heart sustainable management in the Brazilian Atlantic Forest. **Forest Ecology and Management**, v. 284, p. 78-85, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. MAPA/DAS/ACS. 395p. 2009.

HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. **Field guide to the palms of the Americas**. New Jersey: Princeton University Press, 1995. 352 p.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 174p.

LEAL, A. et al. Landscape-scale Forest loss shapes demographic structure of the threatened tropical palm *Euterpe edulis* Mart. (Arecaceae). **Forest Ecology and Management**, v. 502, p. 1-8, 2021.

MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, p. 176-177, 1962.

MARTINELES, G; MORAES, A. M. **Livro Vermelho da flora do Brasil**. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013.

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.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

GUTERRES, S. M. **Encapsulamento e conservação via congelamento a -80°C de embriões maduros de *Butia capitata* (Mart.) Becc.** 2019. 36 p. Trabalho de Conclusão do Curso (Bacharelado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel, São Gabriel, 2019.

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.

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 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.