

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

EFEITO DO TEGUMENTO NA GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE SEMENTES DE *Passiflora mucronata* SOB DIFERENTES MÉTODOS DE DESINFESTAÇÃO

Taísa de Fátima Rodrigues de Almeida¹, Márcia Braga Pereira¹, Joana Silva Costa², Tamyris de Mello², Paula Aparecida Muniz de Lima¹, Rodrigo Sobreira Alexandre², José Carlos Lopes¹.

¹Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias/Departamento de Agronomia, CP 29500-000 Alegre-ES, Brasil, aalmeida049@gmail.com, marciabp25@hotmail.com, aluap-lima@hotmail.com, jcufes@bol.com.br.

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

Resumo

A espécie *Passiflora mucronata* apresenta como principais características o potencial ornamental, medicinal e resistência à bacteriose nas folhas, além de ser altamente resistente à antracnose nos frutos e ramos. Assim, objetiva-se analisar o efeito do tegumento na germinação *in vitro* de sementes de *Passiflora mucronata* sob diferentes métodos de desinfestação. Após a desinfestação, as sementes foram postas para embeber por 24 horas em água destilada com e sem antibiótico amoxicilina na embebição. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, formando fatorial 3 (com tegumento, sem tegumento, embrião) x 2 (com e sem amoxicilina) totalizando seis tratamentos. Foram analisadas a porcentagem de germinação e a eficiência da desinfestação com antibiótico amoxicilina nas sementes. A semente na condição de embrião apresentou melhor germinação, comparada aos demais tratamentos; O uso do antibiótico amoxicilina reduziu a contaminação nas sementes de *Passiflora mucronata in vitro*, porém torna-se desnecessário diante dos resultados observados.

Palavras-chave: Maracujá. Antibiótico. Embrião.

Área do Conhecimento: Engenharia Agrônoma
Introdução

Passiflora é o mais rico e abundante gênero da família Passifloraceae. Além disso, é o maior gênero de trepadeiras e lianas da região Neotropical. Possui cerca de 500 espécies com apenas 20 distribuídas na Índia, sudeste asiático, Austrália e ilhas da Oceania. Os representantes brasileiros de *Passiflora* são conhecidos popularmente pelo nome indígena "maracujá". Esse gênero já foi dividido em 22 subgêneros e atualmente são reconhecidos seis subgêneros, dos quais quatro ocorrem no Brasil: *P. subg. Astropheia* (DC.) Mast., *P. subg. Decaloba* (DC.) Rchb., *P. subg. Deidamioides* (Harms) Killip e *P. subg. Passiflora* (FLORA DO BRASIL, 2023).

Passiflora mucronata Lam. é uma espécie silvestre com potenciais medicinais, ornamentais e agrônômicos, em que suas folhas são resistentes à bacteriose, enquanto seus frutos e ramos são resistentes à antracnose (JUNQUEIRA et al., 2005). Dadas essas características, *P. mucronata* pode ser hospedeira de gene(s) candidato(s) para o controle da fusariose, doença causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* e *Fusarium solani* (CORREIA et al., 2022).

O maracujazeiro é uma cultura bem estudada *in vitro*, não se mostrando recalcitrante e respondendo bem à aplicação de reguladores de crescimento, já tendo sido possível completar o ciclo de micropropagação (GRATTAPAGLIA et al., 1991; APPEZZATO-DA-GLÓRIA et al., 2005). No entanto, ressalta-se que o potencial propagativo do gênero *Passiflora* depende da espécie e da fonte de explante utilizada (APPEZZATO-DA-GLÓRIA et al., 1999).

Para *P. mucronata*, espécie objeto do presente estudo, ainda não se encontra na literatura, relatos de cultura de tecidos para a mesma. Por se tratar de uma frutífera pouco cultivada, porém, com alto interesse, tanto para fins medicinais, ornamentais e agrônômicos, têm-se a necessidade de

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

desenvolver novas tecnologias e protocolos de propagação, contribuindo com a exploração da cultura. Assim, objetiva-se com este trabalho analisar o efeito do tegumento na germinação *in vitro* de sementes de *Passiflora mucronata* sob diferentes métodos de desinfestação.

Metodologia

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Análise de Sementes (CCAE-UFES) e no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, do Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), em Jerônimo Monteiro, ES, Brasil. Sementes do híbrido G5xG1 de *Passiflora mucronata* foram obtidas de cultivo em casa de vegetação localizada no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo - Campus de Alegre. As sementes de frutos maduros e recém-colhidos foram extraídas com auxílio de uma colher esterilizada, removida a polpa com a técnica da cal extinta, sobre uma peneira, lavadas em água corrente e mantidas sobre papel tipo germitest à sombra para secagem, fornecendo os explantes para o estabelecimento *in vitro*. O estudo comparou três métodos de superação de dormência: sementes completas (tegumento+endosperma+embrião), sementes sem tegumento (endosperma+embrião) e sementes com apenas o embrião. Além disso, foi testado a desinfestação com e sem o antibiótico amoxicilina.

Em câmara de fluxo laminar, as sementes com tegumento (semente completa), sem tegumento (endosperma + embrião) foram imersas em álcool 70% por um minuto, seguida de solução de hipoclorito de sódio comercial (Candura®) por 10 minutos, e posteriormente, as sementes foram postas para embeber por 24 horas em água destilada autoclavada sem e com antibiótico amoxicilina na embebição. Após a embebição, uma porção das sementes sem tegumento (endosperma + embrião) tiveram o endosperma extraído para realizar o experimento apenas com embrião. Posteriormente, as sementes com os tratamentos foram semeadas em tubos de ensaio contendo 5 mL de meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), mio-inositol (100 mg L⁻¹ - Sigma®), sacarose (30 g L⁻¹ - Dinâmica®) e ágar (6 g L⁻¹ - Kasvi®), pH ajustado para 5,7 ± 0,1, antes da adição do ágar. Os tubos de ensaio então foram mantidos em sala de crescimento sem fotoperíodo e temperatura 27 ± 2 °C. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com fatorial 3 (com tegumento, sem tegumento, embrião) x 2 (com e sem amoxicilina) totalizando seis tratamentos. Foram analisadas a porcentagem de germinação e a eficiência da desinfestação com antibiótico amoxicilina nas sementes.

Resultados

A condição da semente não influenciou no efeito da desinfestação das sementes de *Passiflora mucronata*, no qual a contaminação foi mínima em todos os tratamentos analisados (Tabela 1). Na primeira avaliação, após 30 dias do estabelecimento dos explantes, a maior porcentagem de contaminação foi observada nas sementes com tegumento sem o tratamento com amoxicilina (20%). Após 60 e 90 dias do estabelecimento dos explantes a maior porcentagem de contaminação foi observada nas sementes sem tegumento, sem o tratamento com amoxicilina.

Tabela 1: Taxa de contaminação de sementes de *Passiflora mucronata* em três condições de sementes (com tegumento, sem tegumento e embrião) ao longo de 90 dias, sob uso de amoxicilina

Tempo (dias)	Contaminação					
	----- % -----					
	Com Amoxicilina			Sem Amoxicilina		
	TG	ST	EB	TG	ST	EB
30	0	6,25	0	20	5	0
60	0	12,5	0	30	35	0
90	5	18,25	0	35	35	0

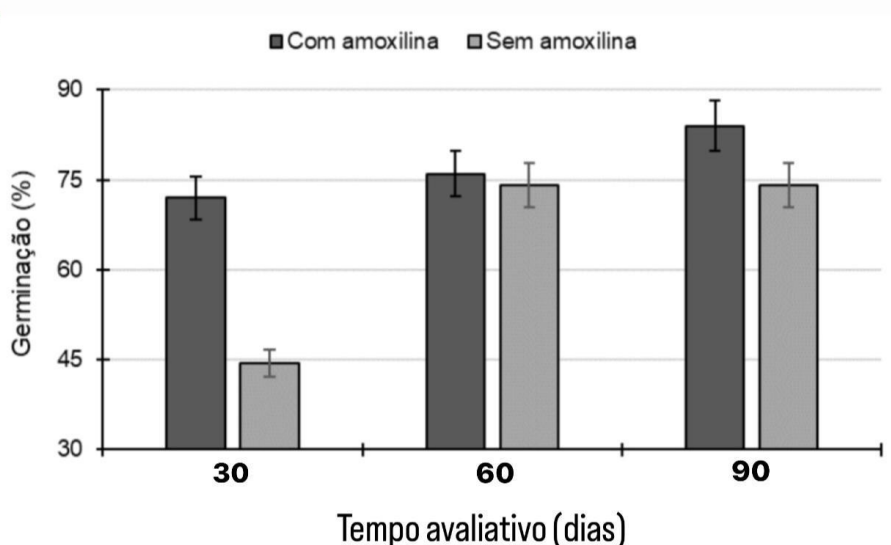
TG: Com tegumento; **ST:** sem tegumento; **EB:** embrião.

Fonte: o autor.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

A condição da semente influenciou para a germinação das sementes de *Passiflora mucronata*, na qual a germinação ocorreu apenas no embrião (Figura 1), sendo a porcentagem de germinação zero nos tratamentos com tegumento e sem tegumento. Na primeira avaliação, após 30; 60 e 90 dias do estabelecimento dos explantes, as maiores porcentagens de germinação foram observadas no embrião com o tratamento com amoxicilina (72; 76 e 84% respectivamente).

Figura 1: Germinação dos embriões ao longo de três avaliações (1º- 30 ; 2º- 60 e 3º- 90 dias), com e sem amoxicilina.



Fonte: o autor.

Apesar de as maiores porcentagens de germinação terem ocorrido com o tratamento com amoxicilina, após 60 e 90 dias do estabelecimento, os embriões não tratados com amoxicilina apresentaram maior valor de germinação, não atribuindo a porcentagem de germinação ao efeito do antibiótico.

Discussão

Ao observar os resultados de contaminação de sementes de *Passiflora mucronata* (Tabela 1), nota-se que o uso de amoxicilina durante 24 h se mostrou eficiente, inibindo até 30% nas sementes com tegumento. Já em relação a contaminação do endosperma, ressalta-se que a taxa de contaminação foi mais elevada em relação às sementes que apresentavam o tegumento, além disso, o uso de amoxicilina apresentou uma redução média de 49%, quando aplicada no endosperma. Um dos fatores que pode interferir na germinação das sementes, pode ser seu revestimento. Donato *et al.* (2005) concluíram que a amoxicilina foi o antibiótico mais eficiente na inibição do crescimento das bactérias *Acetobacter diazotrophicus* e *Herbaspirillum* spp.

A desinfestação realizada com álcool 70% seguida pelo hipoclorito de sódio foi eficiente para desinfestação das sementes de *Passiflora mucronata*, na qual os tratamentos sem amoxicilina também apresentaram baixa porcentagem de contaminação, tornando o uso da amoxicilina dispensável.

A taxa de contaminação do endosperma apresentou uma redução de 35,71% sob o uso de amoxicilina após 60 dias de exposição, enquanto após 90 dias houve uma redução da contaminação de 52,14%,

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

quando comparada ao uso de amoxicilina (Tabela 1). As sementes expostas somente como embrião, não apresentaram nenhum tipo de contaminação ao longo dos tempos avaliativos do estudo. Embora existam vírus que sejam transmitidos por sementes, a probabilidade de transmissão é relativamente baixa, já que isso depende da capacidade do patógeno invadir o embrião e, entre outros fatores, da disponibilidade do hospedeiro no momento da infecção (SALAS *et al.*, 2010)

A germinação de embriões de *Passiflora mucronata*, quando submetidas ao tratamento com amoxicilina (Figura 1) apresentou maiores valores, cuja germinação média foi de 77,33%, enquanto na ausência de amoxicilina, a germinação média foi de 64,20%. Nos tratamentos com e sem tegumento não houve germinação. Este comportamento sugere que o tegumento pode conter agentes inibidores da germinação ou atuar como barreira física, que dificulta a embebição de água pelas sementes, ou mesmo bloquear as trocas gasosas (MARCOS-FILHO, 2015). Nesse caso, por mais que a semente seja viável, ocorre redução na sua porcentagem de germinação.

Após 30 dias do início avaliativo, destaca-se que houve maior efeito da amoxicilina sob a germinação, tendo uma diferença em amplitude de 27,6%, enquanto após 60 dias observou-se amplitude de 1,93%, e após 90 dias essa diferença foi de 9,93% (Figura 1). A amoxicilina não foi testada para influenciar a germinação, mas sim inibir a contaminação das sementes. Contudo, tanto para inibir a contaminação, quanto para influenciar na germinação, o antibiótico se torna indispensável, pelo fato de que sem o uso do mesmo a contaminação foi mínima, assim como a germinação do embrião foi semelhante com ou sem o uso do antibiótico.

Conclusão

A semente na condição de embrião apresentou melhor germinação, comparada aos demais tratamentos;

O uso do antibiótico amoxicilina reduziu a contaminação nas sementes de *Passiflora mucronata in vitro*, porém torna-se desnecessário diante dos resultados observados;

Há necessidade de mais estudos para induzir a germinação de sementes de *Passiflora mucronata*.

Referências

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; VIEIRA, M.L.C.; DORNELAS, M.C. Anatomical studies of *in vitro* morphogenesis in leaf explants of passion fruit. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, 2007-2013, 1999.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; FERNANDO, J.A.; MACHADO, S.R.; VIEIRA, M.L.C. Estudos morfológicos, anatômicos, histoquímicos e ultra-estruturais da organogênese *in vitro* de maracujazeiro. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.V. (eds) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados. p. 387-407, 2005.

CORREIA, A.; ALEXANDRE, R.S.; PFENNING, L.H.; CABANEZ, P.A.; FERREIRA, A.; DA SILVA FERREIRA, M.F.; LIMA, P.A.M.; MELLO, T.; OTONI, W.C.; LOPES, J.C. *Passiflora mucronata*, a passion fruit wild species resistant to fusariosis and a potential rootstock for commercial varieties. **Scientia Horticulturae**, v. 302, p. 111174, 2022.

DONATO, V. M. T. S., ANDRADE, A. G. D., TAKAKI, G. M. D. C., MARIANO, R. D. L. R., MACIEL, G. A. Plantas de cana-de-açúcar cultivadas *in vitro* com antibióticos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, p. 134-141, 2005.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

GRATTAPAGLIA, D.; CALDAS, L.S.; SILVA, J.R.; MACHADO, M.A. Cultura de tecidos do Maracujá. In: SÃO JOSÉ A.R.; FERREIRA F.R.; VAZ R.L. (eds) **A cultura do maracujá no Brasil**. Jaboticabal: FUNEP. p. 61-77, 1991.

JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.; FALEIRO, F.G.; PEIXOTO, J.R.; BERNACCI, L.C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 81-106, 2005.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015. 659p.

SALAS, F.J.S.; CHAVES, A.L.R.; GONÇALVES, M.C.; EIRAS, M.; BARRADAS, M.M. Princípios de vírus em plantas. In: Scherwinski-Pereira, JE (Eds.) **Contaminações microbianas na cultura de células, tecidos e órgãos de plantas**. Brasília, EMBRAPA. p. 347-392. 2010.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Federal do Espírito Santo pelo fornecimento de instalações e equipamentos disponibilizados à pesquisa; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado a primeira autora e doutorado a segunda e terceira autora; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro e bolsas de produtividade em pesquisa aos dois últimos autores; à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), pela concessão da taxa de pesquisa ao último autor (Edital FAPES Nº 19/2018 – Taxa de pesquisa - Processo FAPES nº 82195510) e apoio com bolsa de Fixação e Aperfeiçoamento de Doutores no Espírito Santo a quarta e quinta autora (Edital Fapes nº 15/2022 - Fixação e Aperfeiçoamento de Doutores no Espírito Santo - PROFIX 2022).