

GERMINAÇÃO *EX VITRO* DE SEMENTES ARTIFICIAIS OBTIDAS VIA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA INDIRETA DE *Euterpe edulis* MARTIUS

Débora Pellanda Fagundes¹, Joana Silva Costa², Ingridh Medeiros Simões², Simone Wellita Simão de Carvalho¹, José Carlos Lopes¹, Rodrigo Sobreira Alexandre².

¹Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias/Departamento de Agronomia, Alto Universitário, S/Nº, Guararema, 29500-000, Alegre - ES, Brasil, debora.pellanda@yahoo.com.br, simonewellita@gmail.com, jcufes@bol.com.br.

²Universidade Federal do Espírito Santo/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, rodrigossobreiraalexandre@gmail.com.

Resumo

Juçara é a palmeira símbolo da Floresta Atlântica, importante para o ecossistema e economia devido aos seus frutos ricos em antioxidantes. No entanto, a espécie enfrenta desafios de reprodução e conservação genética, estando vulnerável à extinção. Este estudo teve como objetivo produzir e germinar *ex vitro* sementes artificiais obtidas por embriogênese somática indireta (ESI), visando alternativas para propagação da espécie. Sementes imaturas foram utilizadas na ESI, e após a indução e a maturação dos embriões somáticos (ES) foram encapsulados em alginato de sódio e colocados em substrato comercial, para germinação. Contudo, a contaminação por fungos inviabilizou a germinação, destacando a necessidade de ajustes no protocolo, como a possível inclusão de fungicidas. Conclui-se que o protocolo precisa de otimizações para garantir a viabilidade das sementes artificiais em futuras pesquisas de conservação.

Palavras-chave: Biotecnologia. Sustentabilidade. Conservação genética.

Área do Conhecimento: Engenharia Agrônômica - Engenharia Florestal.

Introdução

Juçara é a palmeira símbolo da Floresta Atlântica, importante para o ecossistema e a economia. Seus frutos são ricos em antocianinas e flavonóis, quando consumidos, melhoram a atividade antioxidante, proporcionam benefícios aos perfis glicêmico e lipídico, além de promover a modulação do estado inflamatório do organismo (Cardoso *et al.*, 2018). A polpa do fruto possui potencial para a fabricação de medicamentos e cosméticos, por ser fonte de antioxidantes naturais que previnem doenças, e na indústria alimentícia, como aditivo para alimentos funcionais (Bicudo; Ribani; Beta, 2014), além de já ser utilizada na produção de sorvetes.

No entanto, a espécie enfrenta desafios na sua reprodução e conservação genética, estando na Lista Brasileira de Espécies Ameaçadas de Extinção da flora do Brasil, com o status de vulnerável (Martinelli; Moraes, 2013). A juçara é incapaz de se reproduzir vegetativamente na natureza (Schulz *et al.*, 2016), e suas sementes são recalcitrantes, o que inviabiliza o armazenamento por períodos prolongados (Gatti *et al.*, 2008).

Considerando a dificuldade de conservação das sementes verdadeiras, que são aquelas produto dos processos de fecundação, desenvolvimento e amadurecimento do óvulo, consideradas como o óvulo maduro que foi fecundado (Oliveira, 2024), objetivou-se produzir e germinar *ex vitro* sementes artificiais que foram obtidas por embriogênese somática indireta (ESI) a partir de embriões zigóticos extraídos de sementes verdadeiras.

Metodologia

Sementes imaturas foram coletadas de espécimes de juçara situados no Espírito Santo, Brasil (20° 38' 24,1" S e 41° 21' 13,4" W), e os demais processos do trabalho foram realizados no Laboratório de

Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV) do Departamento de Ciências Florestais e da Madeira do Centro de Ciências e Engenharias Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES).

Todos os processos para a indução à embriogênese somática foram conduzidos conforme o protocolo desenvolvido por Oliveira *et al.* (2022). O encapsulamento das sementes artificiais ocorreu após a maturação dos embriões somáticos, que foram colocados sob solução de alginato de sódio $\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$ (3%/ Sigma®) contendo meio MS (Dinâmica®) e sacarose (30 g·L⁻¹/ Dinâmica®), em pH $5,7 \pm 0,1$.

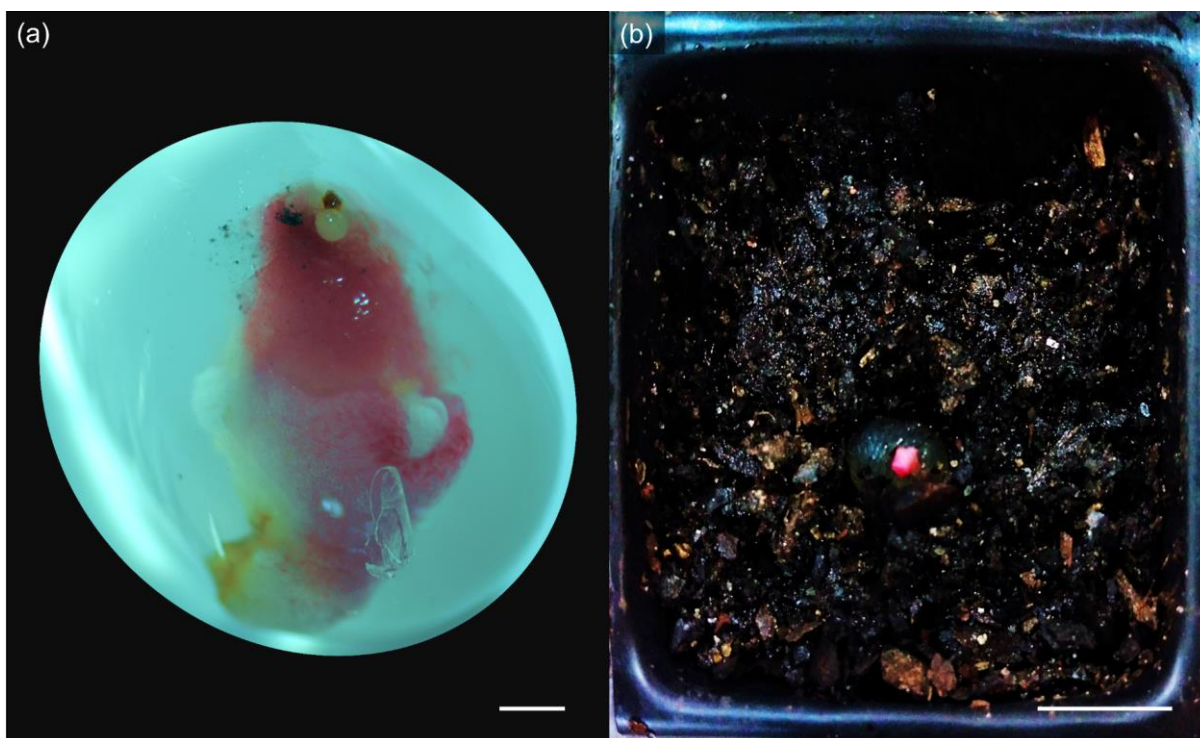
Para a complexação das cápsulas, os embriões foram gotejados em uma solução de cloreto de cálcio CaCl_2 (0,2 M/ Dinâmica®) por 20 minutos, com o auxílio de uma pipeta Pasteur (Cralplast®). Após 15 dias e 30 dias, as sementes artificiais foram descomplexadas em solução de nitrato de potássio KNO_3 (0,2 M/ Dinâmica®) por um período de 20 minutos. Os passos de complexação e descomplexação foram seguidos de lavagem com água autoclavada. As sementes artificiais foram armazenadas em placas de Petri descartáveis estéreis (90x15mm/ Prolab®).

As sementes artificiais foram submetidas à germinação em recipientes de polietileno com dimensões de 8 cm de altura, 4,9 cm de largura na parte superior e 3,6 cm de largura na base (Nutriplan®), preenchidos com 120 mL de substrato (Sphagnum 78%, vermiculita 22%, traços de calcário dolomítico, macro e micronutrientes; Carolina Soil®). O experimento foi conduzido com delineamento inteiramente casualizado (DIC), contendo dois tratamentos (com 15 dias e 30 dias de armazenamento das sementes artificiais). Cada repetição foi composta por 10 sementes artificiais, havendo quatro repetições por tratamento.

Resultados

Todas as sementes artificiais submetidas à germinação em substrato, foram acometidas por fungos filamentosos, o que inviabilizou a germinação, impossibilitando o estabelecimento das sementes artificiais *ex vitro*.

Figura 1 – Germinação *ex vitro* de sementes artificiais



Fonte: O autor.

Discussão

Devido à contaminação microbiana que comprometeu 100% das taxas de germinação, será necessário realizar futuros experimentos com modificações no protocolo para superar essa problemática. Uma das alternativas a ser considerada é o uso de fungicidas, que podem ajudar a controlar a proliferação de fungos durante o processo de germinação. No entanto, a aplicação de fungicidas pode provocar efeitos negativos na germinação e no desenvolvimento das plântulas (Bernardes *et al.*, 2019). No entanto, trabalhos anteriores com a produção de sementes artificiais *in vitro* já investigaram o efeito de fungicidas na cápsula das sementes artificiais (Kalsoom *et al.*, 2023).

A retirada do meio MS e da sacarose na composição da cápsula, das sementes artificiais pode ser outra forma de contornar essa problemática. A presença desses componentes pode ter contribuído para a proliferação de microrganismos, e a remoção poderá reduzir o risco de contaminação. Essas alterações no protocolo experimental são necessárias para garantir a viabilidade das sementes artificiais em estudos futuros.

Conclusão

A contaminação por fungos filamentosos comprometeu totalmente a germinação das sementes artificiais de juçara, impossibilitando o estabelecimento das plântulas *ex vitro*. Esse resultado revela parte dos problemas a serem superados durante a produção de sementes artificiais.

Para superar essas dificuldades, é essencial considerar modificações nos métodos utilizados, como a introdução controlada de fungicidas, que embora possam apresentar riscos ao desenvolvimento das sementes, podem também prevenir a contaminação. Além disso, a remoção de componentes como o meio MS e a sacarose da composição das cápsulas pode ser necessária para reduzir a contaminação microbiana. Essas alterações podem permitir que as sementes artificiais germinem, viabilizando a propagação e a conservação *ex vitro* da juçara.

Referências

BERNARDES, P. M. *et al.* Toxicological effects of comercial formulations of fungicides based on procymidone and iprodione in seedlings and root tip cells of *Allium cepa*. **ESPR.**, v. 26, p. 21013-21021, 2019.

BICUDO, M. O. P.; RIBANI, R. H.; BETA, T. Anthocyanins, phenolic acids and antioxidant properties of juçara fruits (*Euterpe edulis* M.) along the on-tree ripening process. **Plant Foods Hum. Nutr.**, v. 69, p. 142-147, 2014.

CARDOSO, A. *et al.* An update on the biological activities of *Euterpe edulis* (Juçara). **Res. J. Med. Plant**, v. 84, p. 487-499, 2018.

GATTI, M. G. *et al.* Frost resistance in the tropical palm *Euterpe edulis* and its pattern of distribution in the Atlantic Forest of Argentina. **For. Ecol. Manag.**, v. 256, p. 633-640, 2008.

KALSOOM, Tahira *et al.* In Vitro Synthetic Seed Production of Potato under Different Fungicide Levels and Storage Intervals. **Phyton**, v. 92, p. 2430-2449, 2023.

MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. p. 1-430, 2013.

OLIVEIRA, L. Morfologia de sementes. Universidade Federal de Lavras. Disponível em: <<http://www.ledson.ufra.br/metabolismo-da-germinacao/morfologia-de-sementes/#:~:text=A%20semente%20verdadeira%20%C3%A9%20originada,portanto%2C%20o%20%C3%B3vulo%20maduro%20fecundado>>. Acesso em: 19 agosto 2024.

OLIVEIRA, L. B. et al. Morphoanatomical aspects of auxin herbicides-induced somatic embryogenesis in *Euterpe edulis* Martius, a symbol and threatened species of the Atlantic Forest. **Scientia Horticulturae**, v. 299, p. 111051, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111051>

SCHULZ, M. et al. Juçara fruit (*Euterpe edulis* Mart.): Sustainable exploitation of a source of bioactive compounds. **Food Res Int.**, v. 89, p. 14-26, 2016.

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 e Edital FAPES Nº 08/2021 - MANUTENÇÃO DE EQUIPAMENTOS, Protocolo: 47183.729.19068.22092021), e EDITAL FAPES Nº 12/2021 - Programa de Capacitação de Recursos Humanos na Pós-Graduação - DOUTORADO (PROCAP 2022 – DOUTORADO). A FAPES e CAPES pelo Programa de Desenvolvimento da Pós-Graduação (PDPG) através do projeto “Parcerias Estratégicas nos Estados” EDITAL Nº 18/2020, Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento da UFES, Processo Nº 88887.629488/2021-00 e o projeto “Consolidação dos Programas de Pós-Graduação da área de Ciências Agrárias do Estado do Espírito Santo - Ciências Florestais” pelo apoio financeiro da pesquisa, por meio do Edital FAPES/CNPq Nº 23/2018 – PRONEM (Termo de Outorga 131/2021 e Processo Nº 2021-FDGS5).

Ao 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.

À Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), e ao Laboratório De Cultura De Tecidos (LCTV) Supervisionado pelo professor Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre, por disponibilizar a estrutura e equipamentos utilizados nesse trabalho.