

ESTABELECIMENTO *in vitro* DE SEMENTES DE *Lecythis pisonis* CAMBESS

Simone Wellita Simão de Carvalho¹, Vitória Ferreira Gomes², Emanuel Bizareli de Moraes², Joana Silva Costa², José Carlos Lopes¹, Rodrigo Sobreira Alexandre¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, Alto Universitário, s/n, Guararema, 29500-000, Alegre - ES, Brasil, simonewellita@gmail.com, jcufes@bol.com.br¹, rodrigossobreiraalexandre@gmail.com¹

²Universidade Federal do Espírito Santo, Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, Avenida Governador Lindemberg, 316, 29550-000, Jerônimo Monteiro - ES, Brasil, vitoriaengfor@gmail.com, emanuelbizareli11@hotmail.com, joanasilvacosta9@hotmail.com

³Universidade Federal do Espírito Santo, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Alto Universitário, s/n, Guararema, 29500-000, Alegre - ES, Brasil, jcufes@bol.com.br¹

Resumo

Lecythis pisonis Cambess, conhecida como sapucaia é uma importante Lecythidaceae com presença registrada no Brasil. A via seminífera é a principal forma de propagação desta espécie. Suas sementes apresentam dormência fisiológica, emergência desuniforme com baixa viabilidade. Objetivou-se com este estudo estabelecer um protocolo de desinfestação para a propagação de sementes de *L. Pisonis in vitro*. As sementes foram coletadas em Laranja da Terra - ES e transportadas até o Laboratório de Sementes Florestais e Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, onde foi realizado o beneficiamento. O experimento foi realizado com cinco tratamentos de três repetições contendo 10 sementes, totalizando 30 sementes por tratamento. Após 30 dias do estabelecimento *in vitro*, foi realizado o cálculo da porcentagem de contaminação. As sementes com a remoção completa do tegumento possibilitou alto potencial de desinfestação, com apenas 3,33% de contaminação bacteriana. Conclui-se a presença do tegumento em sementes de *L. pisonis* favorece a contaminação no estabelecimento *in vitro*, portanto, recomenda-se a sua remoção completa.

Palavras-chave: Cultura de tecidos vegetais. Contaminação. Sapucaia.

Área do Conhecimento: Engenharia Agrônômica – Engenharia Florestal

Introdução

As Lecythidaceae A. Rich, é uma importante família na classe das angiospermas. Entre as espécies pertencente encontra-se a *Lecythis pisonis* Cambess, conhecida como sapucaia, destaca-se pela beleza de suas flores, frutos e sementes bem característicos, é uma espécie endêmica do Brasil com ocorrência nos biomas de Mata Atlântica e Amazônica (Smith, 2025).

L. pisonis apresenta grande destaque ecológico em áreas florestais e de conservação, seus frutos do tipo pixídio, abrigam suas sementes, as quais apresentam um arilo carnoso presente na região do hilo, o que atrai morcegos e macacos os quais são os principais responsáveis pela dispersão da espécie (Mori; Prance, 1990; Lorenzi, 2002; Souza *et al.*, 2014).

A via seminífera é a principal forma de propagação da espécie, entretanto, suas sementes apresentam dormência fisiológica, emergência desuniforme com baixa viabilidade (Lorenzi, 2002; Monteiro, 2015). Considerando ainda que, o vigor das sementes, a taxa de emergência e de germinação, sofrem influência direta de fatores ambientais, químicos e genéticos da planta matriz (Rosa *et al.*, 2020). Na natureza, essas sementes atuam na restauração de florestas de forma lenta e natural. Os distúrbios causados pelas mudanças climáticas, a depender de sua intensidade pode influenciar na viabilidade de sementes de diversas espécies (Moro *et al.*, 2024). Por este motivo, é fundamental que

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

novas técnicas sejam estudadas a fim de fortalecer a propagação de espécies que apresentam tais desafios, minimizando os riscos de extinção.

O cultivo *in vitro* é uma técnica que permite a propagação vegetativa de diversas espécies em condições assépticas ou seja livre de contaminações (Dias *et al.*, 2017). Porém, a eficiência dos protocolos para a propagação *in vitro* depende de diversos fatores, como o método de desinfestação utilizado, a seleção do explante apropriado e as condições em que este permanecerá *in vitro* (De Oliveira *et al.*, 2020).

Sementes quando germinadas *in vitro* produzem mudas assépticas, o que favorece a evolução de trabalhos desenvolvidos por meio da técnica de micropropagação (Prim *et al.*, 2021). Portanto, objetivou-se com este estudo estabelecer um protocolo de desinfestação para a propagação de sementes de *L. Pisonis in vitro*.

Metodologia

O experimento foi realizado no Laboratório de Sementes Florestais e no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, pertencentes ao Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES), no município de Jerônimo Monteiro - ES.

As sementes foram coletadas em uma matriz de *Lecythis pisonis* localizada no município de Laranja da Terra - ES e transportadas até o Laboratório de Sementes Florestais onde foi realizado o beneficiamento e o preparo de cada tratamento, os quais são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Estabelecimento de sementes de *L. pisonis in vitro*

Tratamentos	Descrição dos tratamentos
1	Sementes com tegumento intacto
2	Sementes sem tegumento
3	Sementes com escarificação do tegumento na região do hilo
4	Sementes com escarificação do tegumento na região oposta ao hilo
5	Sementes com escarificação do tegumento nas duas extremidades

Fonte: os autores

A escarificação mecânica nas sementes foi realizada com auxílio de lixa nº 80, e para a retirada completa do tegumento foi utilizada uma tesoura.

Na câmara de fluxo laminar, o processo de desinfestação consistiu na imersão das sementes por um minuto em álcool 70%, tríplice lavagem com água destilada e autoclavada, hipoclorito de sódio 2,5% (Qboa®) por 20 minutos, tríplice lavagem em água destilada e autoclavada e submetidos a solução do fungicida Across (4 mL L⁻¹) por 30 minutos, mantendo-se o resíduo do fungicida.

Para o estabelecimento *in vitro*, as sementes foram estabelecidas individualmente em tubos de ensaio previamente preparados e autoclavados, contendo 10 mL do meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com vitaminas de Gamborg (Sigma-Aldrich®), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose (Dinâmica®), 0,1 g L⁻¹ de mioinositol (Sigma-Aldrich®), 1 g L⁻¹ de PVP (Synth®), 5,5 g L⁻¹ de ágar (Kasvi®), e pH ajustado a 5,7 ± 0,1. Em seguida, os tubos contendo as sementes foram mantidos em sala de crescimento sob irradiância de 60 µmol m⁻² s⁻¹, fotoperíodo de 8/16 horas e temperatura de 27 ± 2 °C.

O experimento foi realizado com cinco tratamentos de três repetições de 10 sementes cada. 30 dias após o estabelecimento foi calculado a porcentagem de contaminação das sementes.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

Resultados

No tratamento 2, foi realizada a remoção completa do tegumento da semente de sapucaia, antes do processo de desinfestação, e isto, foi capaz de reduzir a zero a contaminação fúngica e apenas 3,33% das sementes apresentaram contaminação bacteriana em relação aos demais tratamentos avaliados (Tabela 2).

Tabela 2. Porcentagem de contaminação em sementes de *Lecythis pisonis* Cambess

Tratamentos	Contaminação (%)	
	Bactéria	Fungo
1	66,66	23,33
2	3,33	0
3	83,33	16,66
4	80	16,66
5	90	10

Fonte: os autores.

Discussão

A contaminação dos explantes é um dos principais desafios encontrados na cultura de tecidos vegetais, sendo muito trabalhoso em algumas espécies (Gammoudi *et al.*, 2022). Em espécies como *L. pisonis*, que apresentam sementes grandes, tegumento espesso e presença de ranhuras, a desinfestação deste tipo de explante é ainda mais complicada.

As altas taxas de contaminação (até 90 %), no cultivo *in vitro* também pode estar associada a presença de bactérias e fungos endofíticos, o que pode influenciar no processo de desinfestação, assim como observado por Paulúcio *et al.* (2016). Entretanto, a retirada do tegumento das sementes de *L. pisonis*, no protocolo de desinfestação testado mostrou-se eficiente para o controle da contaminação favorecendo o seu estabelecimento *in vitro*.

Conclusão

A presença do tegumento em sementes de *L. pisonis* favorece a contaminação no estabelecimento *in vitro*, portanto, recomenda-se a sua remoção completa.

Referências

- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds**: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. 2nd. ed. San Diego: Academic: Elsevier; 2014. 1586 p.
- DE OLIVEIRA, L. F.; DOS SANTOS, A. L. W.; FLOH, E. L. S. Polyamine and amino acid profiles in immature *Araucaria angustifolia* seeds and their association with embryogenic culture establishment. **Trees**, v. 34, n. 3, p. 845-854, 2020.
- DIAS, M. I.; BARROS, L.; SOUSA M. J.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; SANTOS-BUELGA, I. C. F. R. Ferreira. Enhancement of nutritional and bioactive compounds by *in vitro* culture of wild *Fragaria vesca* L. vegetative parts. **Food Chemistry**, v. 235, p. 212-219, 2017.
- GAMMOUDI, N.; NAGAZ, K.; FERCHICHI, A.. Establishment of optimized in vitro disinfection protocol of *Pistacia vera* L. explants mediated a computational approach: multilayer perceptron–multi– objective genetic algorithm. **BMC Plant Biology**, v. 22, n. 1, p. 324, 2022.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. v.1, 368 p.

MONTEIRO, T. L. **Divergência genética em sapucaia baseada em características juvenis**. Monografia de conclusão de curso. 2015. Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro. 27 p. 2015.

MORI, S. A.; PRANCE, G. T. **Lecythidaceae - Part II: The zygomorphic-flowered New World genera (*Bertholletia*, *Corythophora*, *Couratari*, *Couroupita*, *Eschweilera*, and *Lecythis*)**. Flora Neotropica Monographs, v. 21, n. 2, p. 1-376, 1990.

MORO, A. V. I.; BORGHETTI, F.; GALETTO, L.; CELLINI, J. M.; BRAVO, S. J. The influence of seed functional traits and anthropogenic disturbances on persistence and size of the soil seed bank from dry subtropical forest species. **Forest Ecology and Management**, v. 551, p. 121524, 2024.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

PAULUCIO, M. C. **Germinação ex vitro e potencial organogênico e embriogênico in vitro de *Lecythis pisonis* Cambess**. Dissertação de Mestrado. 2016. Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro. 72 p.

PRIM, P. S.; OLIVEIRA, L. F.; RIBAS, L. L. F. An efficient protocol for in vitro propagation of *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae): a potential tree for natural insecticide production. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 144, n. 2, p. 469-476, 2021.

ROSA, T. L. M.; ARAÚJO, C. P.; KAMKE, C.; FERREIRA, A.; FERREIRA, M. F. S.; BESTETE, J. P.; SCHMILDT, E. R.; LOPES, J. C.; MENGARDA, L. H. G.; OTONI, W. C.; SANTOS, A. R.; ALEXANDRE, R. S. Sapucaia nut: Morphophysiology, minerals content, methodological validation in image analysis, phenotypic and molecular diversity in *Lecythis pisonis* Cambess. **Food Research International**, v. 137, p. 109383, 2020.

SMITH, N. P. ***Lecythis* in flora e funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB8561>. Acesso em: 13 ago. 2025.

SOUZA, A. S.; MARGALHO, L.; PRANCE, G. T.; GURGEL, E. S. C.; GOMES, J. I.; DE CARVALHO, L. T.; MARTINS-DA-SILVA, R. C. V. **Conhecendo espécies de plantas da Amazônia: Sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess. Lecythidaceae)**. p. 1-5, 2014. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/999043/1/COM250.pdf>. Acesso em: 13 de ago. 2025.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa e inovação do Espírito Santo (FAPES), pela concessão da bolsa de estudos - EDITAL FAPES Nº 12/2021 - PROGRAMA DE CAPACITAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS NA PÓS-GRADUAÇÃO - DOUTORADO (PROCAP 2022 – DOUTORADO).

Ao CNPq - Chamada CNPq Nº 09/2022 - Bolsas de Produtividade em Pesquisa (Sementes zigóticas e sintéticas de castanheiras-do-Brasil na conservação sexuada e assexuada deste patrimônio genético inexplorado).

À FAPES - EDITAL FAPES Nº 21/2022 APOIO À INFRAESTRUTURA DE PESQUISA, DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO EM LABORATÓRIOS INTERDISCIPLINARES (Laboratório Interdisciplinar de Ciências do Espírito Santo (LICES)) e EDITAL FAPES Nº 03/2021 – UNIVERSAL (Conservação/criopreservação *ex situ* de embriões zigóticos e somáticos das castanheiras *Lecythis pisonis* e *Lecythis lanceolata*).