DESINFESTAÇÃO *IN VITRO* DE SEGMENTOS NODAIS DE *Passiflora alata*: INVESTIGAÇÃO DE DIFERENTES PROTOCOLOS

Maria Alice Brandão Silva[1], Alice Gorini Pettermann Loureiro Santos[1], Simone Wellita Simão de Carvalho[1], Joana Silva Costa[2], Tamyris de Mello[2] e Rodrigo Sobreira Alexandre[1]

[1]Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, Alto Universitário, s/nº, Guararema, Alegre - ES, 29500-000, Brasil, alice.gestaoambiental@gmail.com, alicegorinip@outlook.com, simonewellita@gmail.com, rodrigosobreiraalexandre@gmail.com

[2] Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, Avenida Governador Lindemberg, 316, Centro, Jerônimo Monteiro - ES, 29550-000, Brasil, joanasilvacosta9@hotmail.com, tamyrisdemello@gmail.com

Resumo

Passiflora alata é a segunda espécie de maracujazeiro mais cultivada no Brasil. Quando propagada por via seminífera favorece pomares com frutos desuniformes devido à sua variabilidade genética. A propagação *in vitro* pode viabilizar o aumento da clonagem de matrizes com características de maior interesse econômico. Em razão do exposto, objetivou-se analisar a eficácia de diferentes métodos de desinfestação aplicados sobre segmentos nodais de *Passiflora alata*. Foram utilizados como explantes segmentos nodais de *P. alata*, submetidos a diferentes tratamentos de desinfestação em câmara de fluxo laminar, seguindo delineamento inteiramente casualizado, com 5 repetições, sendo analisadas as porcentagens de necrose e de contaminação bacteriana e fúngica. Ao fim de 8 dias em meio basal, ocorreu alta porcentagem de contaminação microbiana (≥ 75%) prevalecendo a contaminação bacteriana. As desinfestações utilizadas foram ineficientes em todos os tratamentos utilizados, sendo necessário persistir em novos estudos para o controle desses agentes microbianos e dar continuidade no processo de propagação *in vitro* de *P. alata*.

Palavras-chave: Maracujazeiro. Cultura de Tecidos. Micropropagação

Área do Conhecimento: Ciências Agrárias.

Introdução

Passiflora alata, obtém registro de ocorrência de norte a sul no Brasil, de forma especial, da Bahia ao Rio Grande do Sul (Flora do Brasil, 2026). Em escala nacional, é a segunda espécie mais cultivada no país, seus frutos adocicados e saborosos justificam seu consumo *in natura* (Lima; Cunha, 2004), mas há também valor ornamental de suas flores (Junghans *et al.,* 2021) e folhas com propriedades sedativas, tranquilizantes (Provensi *et al*., 2008; Klein *et al*., 2014) antioxidantes e anti-flamatórias (Colomeu *et al*., 2014; Figueiredo *et al*., 2016).

Com flores medindo em torno de 11 cm, além de grandes, elas, são bonitas e em sua maioria, autoincompatíveis. Em razão disso, quando propagadas por via seminífera favorece pomares com frutos desuniformes devido sua ampla variabilidade genética (Junghans, 2022). A propagação vegetativa por estaquia contribui para o desenvolvimento de frutos mais uniformes e aliada a propagação *in vitro* pode viabilizar o aumento em massa da clonagem de matrizes com características de maior interesse econômico (Faleiro *et al*., 2019).

Entretanto, em relação a cultura de tecidos quando se refere a explantes adultos oriundos de ambientes *ex vitro*, a desinfestação é uma das etapas mais crítica, pois os materiais além de apresentarem contaminação superficial também contém uma elevada carga microbiana endógena (Sehrawat *et al*., 2021; Halkoglu-Hristova *et al*., 2025). Em razão do exposto, objetiva-se com este

trabalho analisar a eficácia de diferentes métodos de desinfestação aplicados sobre segmento nodal de *Passiflora alata*.

Metodologia

Neste trabalho foram utilizadas como explantes segmentos nodais de *Passiflora alata* Curtis cultivada em casa de vegetação localizada no Viveiro de Espécies Florestais da Universidade Federal do Espírito Santo em Jerônimo Monteiro - ES. Hastes de *P. alata* foram coletadas com tesoura de poda e encaminhadas para o Cultura de Tecidos Vegetais, do Departamento de Ciências Florestais e da Madeira (DCFM), do Centro de Ciências Agrárias e Engenharia (CCAE), da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), *campus* Jerônimo Monteiro - ES, onde foi realizado a montagem do experimento.

No laboratório, as hastes coletadas foram segmentadas em segmentos nodais contendo uma gema cada uma, na sequência ficaram imersas em água destilada e detergente neutro durante 30 minutos e em seguidas lavadas em água corrente por 20 minutos e posteriormente levadas para desinfestação *in vitro*. Em câmara de fluxo laminar, os explantes foram submetidos a diferentes tratamentos de desinfestação (Tabela 1). Após cada etapa de desinfestação de cada tratamento foi realizada a tríplice lavagem dos explantes em água destilada e autoclavada.

Tabela 1. Tratamentos utilizados para desinfestação de *P. alata*

Tratamentos	Agentes desinfestantes
1	Álcool 70%/1 minuto + hipoclorito de cálcio ($Ca(OCl)_2$ (0,1%)/15 minutos
2	Álcool 70%/1 minuto + ($Ca(OCl)_2$ (0,5%)/15 minutos
3	Álcool 70%/1 minuto + hipoclorito de sódio (NaOCl) (2,5%)/10 minutos + Rifapicina (15 µg mL^{-1}) + Cercobim (2 g L^{-1})/15 minutos
4	Álcool 70 %/1 minuto + NaOCl (5%)/10 minutos + Rifapicina (15 µg mL^{-1}) + Cercobim (2 g L^{-1})/15 minutos
5	Álcool 70%/1 minuto + NaOCl (2,5%)/10 minutos + Peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (6%)/8 minutos
6	Álcool 70%/1 minuto + NaOCl (5%)/10 minutos + Peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (6%)/8 minutos

Fonte: Elaborado pelos autores.

Após o processo de desinfestação, as extremidades necrosadas dos segmentos nodais foram retiradas com bisturi e em seguida foram inseridos em tubos de ensaio (25 x 150 mm) contendo 7 mL de meio de cultura MS (Murashige; Skoog, 1992) (Sigma®) suplementado com sacarose (Dinâmica®) à 3%, ágar (Kasvi®) à 0,6%, polivinilpirrolidona (PVP) (Synth) à 0,1% e mioinositol (Sigma®) à 0,01% (meio 1). O pH do meio foi ajustado em 5,7 ± 0,1 com KOH (Alphatec®) e/ou HCl (Vetec®) a 1,0 N antes de ser misturado com o ágar. Os tubos foram autoclavados por 20 minutos a 121 °C. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 27 ± 2 °C, fotoperíodo de 16/8 horas luz/escuro com irradiância de 36 µmol m^{-2} s^{-1} durante 8 dias. Passado o período de 8 dias foi analisado a porcentagem (%) de necrose, contaminação bacteriana e fúngica.

Os tratamentos seguiram delineamento inteiramente casualizado, com 5 repetições, cada repetição foi representada por 5 tubos de ensaio contendo 1 explante. As variáveis analisadas foram porcentagem (%) de necrose, % de contaminação bacteriana e fúngica.

Resultados

Após 8 dias em meio basal, ocorreu baixa porcentagem de necrose, não ultrapassando 5% (tratamento 3 e 6). Todavia, houve alta porcentagem de contaminação microbiana (≥ 75%), quando não fúngica (5 a 45%) prevaleceu a contaminação bacteriana (45 a 70%) (Tabela 2).

Tabela 2. Porcentagem de necrose e contaminação microbiana de segmentos nodais de *P. alata*

Tratamentos	Necrose (%)	Fungo (%)	Bactéria (%)	Contaminação total (%)
1	0	45	45	90
2	0	35	50	85
3	5	5	70	75
4	0	10	70	80
5	0	40	45	85
6	5	30	60	90

Fonte: Elaborado pelos autores.

Discussão

As desinfestações utilizadas em segmentos nodais de *Passiflora alata* foram ineficientes em todos os tratamentos utilizados. Estabelecer culturas assépticas a partir de material *ex vitro*, é uma etapa complexa, sendo este ainda um dos problemas na propagação *in vitro* (Oros *et al*., 2022). Materiais coletados em ambientes como casa de vegetação, apesar ter uma menor probabilidade de contaminação comparada ao campo, ainda sim, abriga uma alta carga de microrganismo (Sivanesan *et al*., 2021; Mganga *et al*., 2025).

A contaminação pode ser originada da planta-mãe, superfície do explante, água e recipientes utilizadas para irrigação (Darwesh *et al*., 2024). Além disso, o meio utilizado no cultivo *in vitro*, favorece a proliferação bacteriana e fúngica, que na maioria das vezes se desenvolvem mais rápido do que o próprio material estabelecido, estes microrganismos liberam substâncias fitotóxicas no meio nutritivo que acabam inibindo o crescimento do explante (Cassells *et al*., 2012; Permadi *et al*., 2023).

Conclusão

Os tratamentos utilizados no presente estudo, não controlaram a contaminação bacteriana e fúngica, mas causaram pequeno porcentual de necrose nos segmentos nodais de *Passiflora alata*. É necessário persistir em novos estudos para o controle desses agentes microbianos, ajustando o tempo e concentração dos produtos utilizados e/ou combinando os mesmo com diferentes reagentes, para assim dar continuidade no processo de propagação *in vitro* de *P. alata*.

Referências

BOBOC OROS, P.; CANTOR, M.; CORDEA, M. I.; CĂTANĂ, C. Plant regeneration protocol for recalcitrant passionflower (*Passiflora quadrangularis* L.). **Horticulturae**, v. 8, n. 4, 337, 2022. DOI: https://doi.org/10.3390/horticulturae8040337.

CASSELLS, A. C. Pathogen and biological contamination management in plant tissue culture: phytopathogens, vitro pathogens, and vitro pests. **Methods in Molecular Biology**, v. 877, p. 57-80, 2012. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-61779-818-4_6.

COLOMEU, T. C.; FIGUEIREDO, D.; CAZARIN, C. B.; SCHUMACHER, N. S.; MAROSTICA JÚNIOR, M. R.; MELETTI, L. M.; ZOLLNER, R. L. Antioxidant and anti-diabetic potential of *Passiflora alata* Curtis aqueous leaves extract in type 1 diabetes mellitus (NOD-mice). **International Immunopharmacology**, v. 18, p. 106-115, 2014. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2013.11.005

DARWESH, O.; ZAIED, N.; HASSAN, S. Control of microbial contamination during the micropropagation process of some fruit trees. **Egyptian Journal of Agronomy**, v. 46, n. 1, p. 179-190, 2024. DOI: https://doi.org/10.21608/agro.2024.300442.1457.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNGHANS, T. G.; JESUS, O. N. de; MIRANDA, D.; OTONI, W. C. Advances in passion fruit (*Passiflora* spp.) propagation. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, n. 2, e-155, 2019. https://doi.org/10.1590/0100-29452019155

FIGUEIREDO, D.; COLOMEU, T. C.; SCHUMACHER, N. S.; STIVANIN-SILVA, L. G.; CAZARIN, C. B.; MELETTI, L. M.; FERNANDES, L. G.; PRADO, M. A.; ZOLLNER, R. L. Aqueous leaf extract of *Passiflora alata* Curtis promotes antioxidant and anti-inflammatory effects and consequently preservation of NOD mice beta cells (non-obese diabetic). **International Immunopharmacology**, v. 35, p. 127-136, 2016. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2016.03.031

HALKOGLU-HRISTOVA, P. et al. Current progress on *Passiflora caerulea* L. *in vitro* culturing. **Sci**, v. 7, n. 3, 90, 2025. https://doi.org/10.3390/sci7030090
INSTITUTO DE PESQUISAS JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. **Flora do Brasil 2026 em construção**. 2020. Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/. Acesso em: 8 set. 2026.

JUNGHANS, T. G. (ed.). **Espécies de maracujazeiro:** uma riqueza do Brasil. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2022.

KLEIN, N.; GAZOLA, A. C.; LIMA, T. C. M.; SCHENKEL, E.; NIEBER, K.; BUTTERWECK, V. Assessment of sedative effects of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* and *Passiflora alata* extracts in mice, measured by telemetry. **Phytotherapy Research**, v. 28, n. 5, p. 706-713, 2014. https://doi.org/10.1002/ptr.5043

LIMA, A. A.; CUNHA, M. A. P. **Maracujá:** produção e qualidade na passicultura. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004.

MGANGA, S. C.; KARANJA, B. K.; GESIMBA, R.; ABIHUDI, S. Optimization of surface sterilization protocol for *in vitro* initiation of African star grass (*Hypoxis schimperi*). **European Journal of Agriculture and Food Sciences**, v. 7, n. 4, p.44-48, 2025. DOI: https://doi.org/10.24018/ejfood.2025.7.4.931.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962. doi. 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

PERMADI, N.; NURZAMAN, M.; ALHASNAWI, A. N.; DONI, F.; JULAEHA, E. Managing lethal browning and microbial contamination in *Musa* spp. tissue culture: synthesis and perspectives. **Horticulturae**, v. 9, n. 4, artigo 453, 2023. DOI: https://doi.org/10.3390/horticulturae9040453.

PROVENSI, G.; FRANCOIS, N.; LOPES, D. N. V.; FENNER, R.; BETTI, A. H.; COSTA, F.; MORAIS, E. C.; GOSMANN, G.; RATES, S. M. K. Participation of GABA-benzodiazepine receptor complex in the anxiolytic effect of *Passiflora alata* Curtis (Passifloraceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 6, p. 845-851, 2008.

SEHRAWAT, A. R.; MALIK, A.; SEHRAWAT, K. D.; SINGH, A.; KUMAR, D. Antimicrobial and *in vitro* efficacy of green silver nanoparticles in tissue culture of *Alhagi maurorum*. **Nelumbo**, v. 63, n. 1, p. 243-253, 2021. DOI: https://doi.org/10.20324/nelumbo/v63/2021/165155.

SIVANESAN, I.; MUTHU, M.; GOPAL, J.; TASNEEM, S.; KIM, D.-H.; OH, J.-W. A fumigation-based surface sterilization approach for plant tissue culture. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 5, artigo 2282, 2021. DOI: https://doi.org/10.3390/ijerph18052282.

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, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) - EDITAL FAPES/SEAG - Inovagro N 03/2024 - Pesquisa Aplicada às Políticas Públicas Estaduais da Agropecuária, Aquicultura e Pesca no Estado do Espírito Santo, pelo suporte financeiro e bolsas.