PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE JEQUITIBÁ ROSA SOB LUZ ROSA: EFEITOS DA SACAROSE EM SISTEMA DE CULTIVO COM MEMBRANA

Autores: Ewelin Nunes Martins[1], Gustavo Fernandes Mariano[1], Lara Aparecida de Sá Morais[1], Daniel Alves de Paula[1], Warley Costa Silva[1], Milene Miranda Praça Fontes[1], Elias Terra Werner[1].

[1]1Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, Departamento de Ciências Biológicas, Alto Universitário, S/N, Guararema - 29500-000 - Alegre-ES, ewelin.martins@edu.ufes.br, gustavo123mariano@hotmail.com, lara.morais@edu.ufes.br, daniel.paula@edu.ufes.br, warley.silva@edu.ufes.br, milenemiranda@yahoo.com.br, elias.werner@ufes.br.

Resumo
A espécie *Cariniana legalis* (jequitibá-rosa), é classificada como "em perigo" (EN) de extinção pela Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN, para a qual a cultura de tecidos vegetais representa estratégias pertinentes de conservação. A micropropagação fotomixotrófica convencional, no entanto, impõe restrições fisiológicas ao propágulo, como disfunções estomáticas, comprometendo a sobrevivência *ex vitro*. O cultivo fotoautotrófico, viabilizado por membranas microporosas e pela supressão da sacarose no meio de cultura, favorece as trocas gasosas e o desenvolvimento de um aparato fotossintético mais funcional. O objetivo foi avaliar os efeitos da sacarose na propagação in vitro de *C. legalis* cultivada sob luz LED rosa (combinando os pigmentos vermelho e azul) com membrana de politetrafluoretileno. Aos 90 dias, o meio sem sacarose apresentou maior crescimento da parte aérea (86,23 mm) e mais raízes (24,50) que o meio suplementado (57,24 mm; 10,00 raízes), sem diferença nas demais variáveis. Conclui-se que *C. legalis* pode ser micropropagada sem sacarose, reduzindo custos e riscos de contaminação.
Palavras-chave: *Cariniana legalis.* Conservação. Membranas microporosas. Sacarose. Fotoautotrófico. Fotomixotrófica.

Área do Conhecimento: Botânica.

Introdução

Cariniana legalis (Mart.) Kuntze é uma das maiores e mais longevas espécies arbóreas endêmicas Da Mata Atlântica brasileira (Smith *et al*., 2016 apud Mielke *et al.,* 2023), popularmente conhecida como jequitibá-rosa e símbolo do estado do Espírito Santo. Trata-se de uma árvore heliófita pertencente à família Lecythidaceae, típica de florestas latifoliadas semidecíduas, podendo ser encontrada nos estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo, Mato Grosso do Sul e Paraná (Kubota *et al*., 2024). Ações antrópicas, como a exploração seletiva de madeira, têm causado o declínio progressivo de árvores grandes e antigas em florestas tropicais (Lindenmayer; Laurance, 2017 apud Mielke *et al.,* 2023), e *C. legalis* não escapa a essa tendência, a espécie figura atualmente na lista vermelha de espécies ameaçadas da iucn (Iucn, 2024). Diante desse cenário de vulnerabilidade, a cultura de tecidos vegetais configura-se como estratégia biotecnológica viável para a conservação e o estabelecimento in vitro da espécie, possibilitando a produção de mudas de qualidade em larga escala e contribuindo para a preservação do patrimônio genético dessa espécie ameaçada (Iarema *et al.,* 2012).

A propagação in vitro é uma das áreas da cultura de tecidos vegetais utilizada para propagar plântulas (Suresh; Elango; Senthil, 2025). A micropropagação mais tradicional dessa área é o cultivo *in vitro* fotomixotrófico onde o meio de cultura é enriquecido com sacarose, uma importante fonte de carbono para o propágulo (Lapa *et al.,* 2025). Esses sistemas convencionais de micropropagação são realizados em recipientes vedados e podem apresentar características limitantes específicas, como alta umidade relativa do ar, acúmulo de gás etileno e pouca ou nenhuma troca gasosa, o que resulta em baixa concentração de CO_2 no interior dos frascos (Saeedi *et al.,* 2023). Nessas condições, as plântulas micropropagadas frequentemente exibem disfunções estomáticas, deficiência na formação de cera epicuticular, alongamento excessivo dos brotos, baixa concentração de clorofila, hiper-

hidratação, enraizamento limitado, formação de calos na base dos explantes e reduzida taxa de sobrevivência *ex vitro* (Abdalla *et al.,* 2022).

A fotoautotrofia é definida de forma restrita como a micropropagação com ausência ou baixa adição de sacarose ($C_6H_{12}O_6$) no meio de cultura, fazendo com que as plantas dependam totalmente da fotossíntese realizada por elas mesmas para se nutrir e por esse motivo, essa técnica também pode ser chamada de micropropagação fotossintética (Alves *et al.,* 2024). Segundo Souza *et al.,* 2023 A remoção de carboidratos no meio de cultura, diminui os custos associados ao cultivo, levando em conta que o uso generalizado da micropropagação in vitro ainda é limitado devido aos altos custos de produção (Dos Santos *et al.*, 2024). Além de reduzir o rápido crescimento de microrganismos, proporcionar desenvolvimento do aparelho fotossintético mais eficiente e aumentar a taxa de sobrevivência das plantas durante a aclimatização .

Para que a fotoautotrofia ocorra, é necessário permitir a troca gasosa entre o ambiente *in vitro* e o ambiente externo por meio de membranas microporosas na vedação dos frascos, as quais atuam como barreira física mantendo o ambiente asséptico e, ao mesmo tempo, permitem a difusão controlada dos gases, entrada de oxigênio (O_2) e a saída de dióxido de carbono (CO_2). Essas membranas também são eficazes para controlar a umidade relativa no interior dos recipientes e o acúmulo de gás etileno, que, em grandes quantidades, causa senescência antecipada das folhas (Carrari *et al.,* 2024). Esse mecanismo força a autotrofia das plantas: a assimilação de CO_2 ocorre naturalmente, como se a planta estivesse em campo, o que diminui o nível de estresse e resulta em um aparelho fotossintético funcional e mais aprimorado, quando comparado a propágulos cultivados em recipientes totalmente vedados (Oliveira *et al.*, 2022). Diversos estudos atuais demonstram que essa estratégia melhora o crescimento e a qualidade das plântulas micropropagadas *in vitro.*

A intensidade da luz influencia diretamente a absorção pela clorofila e controla praticamente todos os processos fisiológicos e bioquímicos das plantas, sendo por isso um dos fatores cruciais na micropropagação (Rangel, 2024). O uso de LEDs tem se mostrado uma alternativa vantajosa em relação a fontes convencionais, como lâmpadas fluorescentes, para melhorar a qualidade do cultivo in vitro, por oferecer controle da composição espectral, longa durabilidade, especificidade de comprimento de onda e baixa emissão térmica, além de aumentar as chances de melhor desempenho das mudas durante a aclimatização (Dos Santos, 2024; Araújo *et al.,* 2021). o LED rosa, combinação das cores azul e vermelha, tem se mostrado de grande importância para o desenvolvimento fisiológico das plantas (Santos *et al.*, 2022). justificado pelos fitocromos, que absorvem radiação na faixa do vermelho (700 nm) e atuam na germinação, no crescimento e no desenvolvimento reprodutivo, enquanto os criptocromos e as fototropinas que absorvem radiação na faixa do azul (400 nm) e respondem pelo fototropismo, pelos movimentos estomáticos, pelo alongamento do caule e pela biossíntese de pigmentos (Cioć *et al.,* 2018).

Metodologia

As sementes de Cariniana legalis foram coletadas na Floresta Nacional de Pacotuba, localizada no distrito de Pacotuba, município de Cachoeiro de Itapemirim, ES. Em seguida, foram transportadas para o Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), campus Alegre (LABCITO).

A desinfestação das sementes foi conduzida em câmara de fluxo laminar, sob condições assépticas. Inicialmente, o material foi enxaguado três vezes com água destilada, imerso em álcool 70% (v/v) por um minuto e novamente lavado com água destilada. Na sequência, as sementes foram imersas em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 2,5% por uma hora e, ao final, triplamente enxaguadas com água destilada e autoclavada.

Após a desinfestação, as sementes foram inoculadas em meio de cultura basal MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) acrescido de 4,4 g L^{-1} de sais e 7,5 g L^{-1} de ágar, testando-se duas suplementações: com e sem adição de 30 g L^{-1} de sacarose. Foram utilizados potes de vidro (capacidade de 600 mL; 12 cm de altura e 5 cm de diâmetro interno) contendo 100 mL de meio de cultura, previamente autoclavados a 121 °C e 1,1 atm por 20 minutos. Cada tratamento contou com duas repetições, contendo duas sementes por frasco.

Ambas as formulações tiveram o pH ajustado para 5,7 ± 0,1 antes da autoclavagem. Os frascos foram vedados com tampa plástica fosca provida de membrana de politetrafluoretileno (Phytotechnology®), devidamente autoclavada nas mesmas condições do meio. As culturas foram

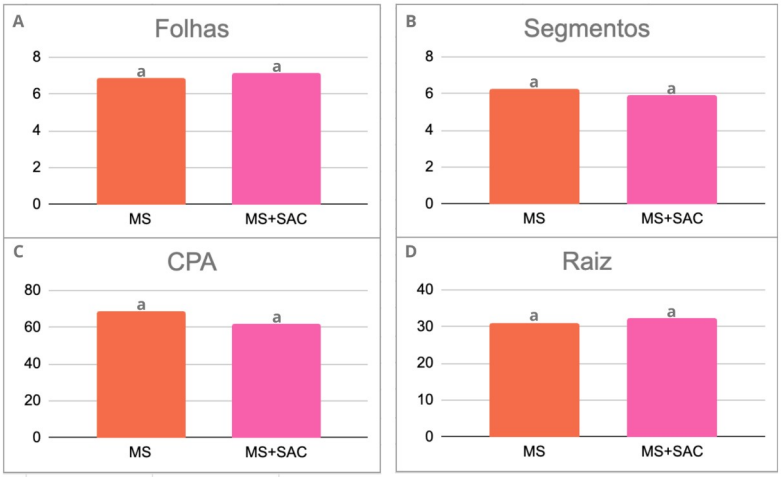
mantidas em sala de crescimento a 25 ± 2 °C, sob fotoperíodo de 16/8 h (luz/escuro) e iluminação fornecida por fitas de LED rosa (Full Spectrum, Grow Light, 665 e 450 nm) com irradiância de 25 µmol m^{-2} s^{-1}.

Resultados

Após 90 dias de cultivo *in vitro*, os resultados de comprimento de parte aérea (CPA) apresentados na Figura 1 indicam que o crescimento do explante de jequitibá-rosa, cultivado em meio de cultura com e sem sacarose sob vedação com uma membrana microporosa de politetrafluoretileno, não se diferenciou estatisticamente entre os tratamentos, com média de 68,55 mm para o meio sem adição de sacarose e de 61,68 mm para o meio suplementado com sacarose.

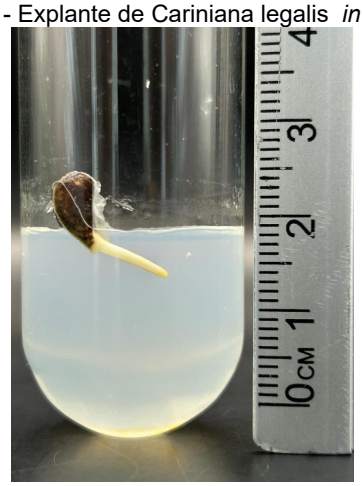
O mesmo padrão foi observado para o número de raízes: o explante apresentou média de 31,00 no meio MS e de 32,25 no meio MS+SAC, valores muito próximos entre si e sem diferença estatística. Para o número de folhas, o meio de cultura sem adição de sacarose apresentou média de 6,89, enquanto o meio suplementado com sacarose apresentou média de 7,18, novamente sem diferença estatística. A avaliação do número de segmentos nodais seguiu o mesmo comportamento, com médias de 6,29 para o meio MS e de 5,91 para o meio MS+SAC.

Figura 1 - Explante de Cariniana legalis *in vitro*.



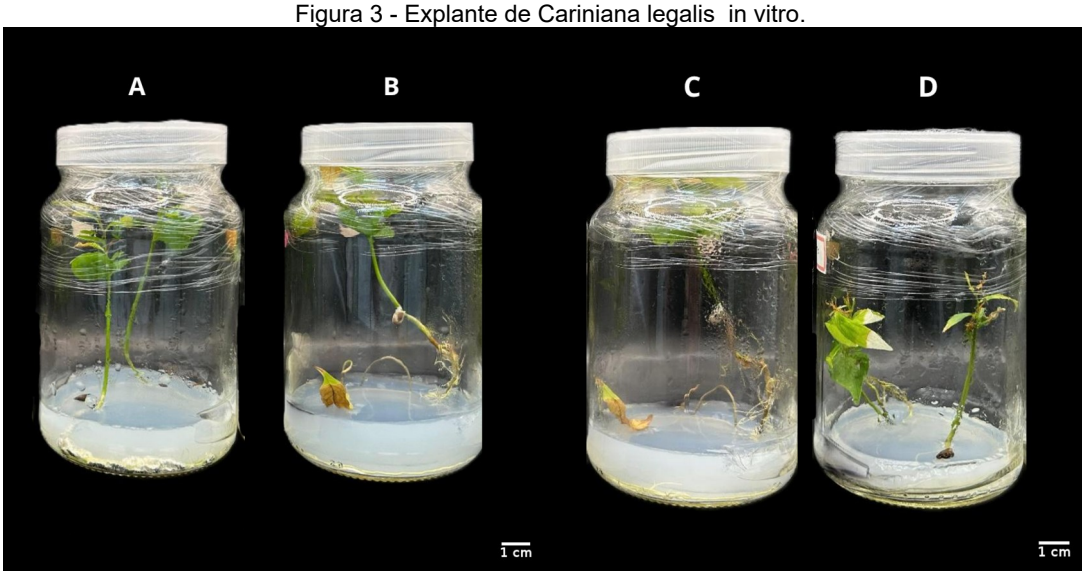
Legenda: A - Comprimento de parte aérea (mm), B - Comprimento de raiz (mm), C - Número de folhas, D - Número de segmentos. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Shapiro-Wilk (P<0,05) Fonte: Próprio autor (2026).

Figura 2 - Explante de Cariniana legalis *in vitro*.



Fonte: Autor (2026)

Figura 3 - Explante de Cariniana legalis in vitro.



Legenda: Explante cultivado em meio de cultura suplementado sem sacarose 60 dias (A), explante cultivado em meio de cultura com adição de sacarose 60 dias (B), Explante cultivado em meio de cultura suplementado com sacarose (C) e explante cultivado em meio de cultura sem adição de sacarose (D). Fonte: Próprio autor (2026). 90 dias.

Discussão

Apesar do potencial da micropropagação *in vitro* para a produção em larga escala de mudas geneticamente uniformes, o alto custo de produção ainda é um dos principais fatores que limitam a adoção mais ampla dessa técnica, sobretudo para espécies lenhosas e florestais, afastando pequenos produtores e laboratórios com menor capacidade de investimento (Castro-Camba *et al.*, 2023). Grande parte desse custo está associada aos insumos do meio de cultura e às perdas por contaminação microbiana, que se intensificam justamente quando há açúcar disponível no meio (Dos Santos *et al.*, 2024). Sendo assim, estratégias que permitam reduzir ou eliminar a sacarose sem comprometer o desenvolvimento do propágulo representam uma via direta de barateamento da técnica, especialmente relevante para uma espécie ameaçada de extinção como *C. legalis*.

O desenvolvimento inicial das plantas é marcado por uma fase predominantemente heterotrófica, na qual o crescimento do embrião e da plântula depende da mobilização das reservas acumuladas durante a formação da semente carboidratos, lipídios e proteínas que sustentam a respiração e a síntese de novos componentes celulares (Silvério, 2025). À medida que os cotilédones surgem, eles atuam como estruturas de armazenamento e dão início à capacidade fotossintética da planta, estabelecendo progressivamente uma fonte endógena de carbono e, com isso, o início da fase fotoautotrófica do explante (Rehmani *et al.,* 2023). Essa aquisição de capacidade fotossintética é determinante para o estabelecimento da plântula *in vitro*, pois reduz sua dependência das reservas seminais e aumenta a contribuição da assimilação de CO_2 para o suprimento de carbono (Rehmani *et al.,* 2023).

Nesse sentido, a ausência de diferença estatística entre os meios com e sem sacarose para todas as variáveis avaliadas indica que o explante de *C. legalis*, aos 90 dias, já havia estabelecido essa fonte endógena de carbono de forma suficiente para sustentar seu desenvolvimento, independentemente do carboidrato exógeno oferecido no meio. Esse comportamento é favorecido pela troca gasosa promovida pela membrana na vedação dos frascos, que permite a entrada de oxigênio (O_2) e a saída de dióxido de carbono (CO_2), controlando ainda a umidade relativa e o acúmulo de gás etileno no interior do recipiente (Carrari-Santos *et al.,* 2024).

Os resultados encontrados neste trabalho com *C. legalis* corroboram, portanto, a literatura tanto sobre custo de produção quanto a literatura fisiológica: a remoção total ou parcial da sacarose na composição do meio de cultura torna a técnica mais barata e reduz as chances de contaminação (Souza *et al.,* 2023). As respostas fisiológicas de crescimento e desenvolvimento de plantas cultivadas *in vitro*, com ou sem sacarose, variam conforme a espécie (Alves *et al.,* 2024). Para o jequitibá-rosa,

sob vedação com uma membrana microporosa e luz LED rosa, não foi observada diferença estatística entre o meio de cultura sem adição de sacarose e o meio suplementado.

Conclusão

A composição do meio de cultura, com ou sem sacarose, para o jequitibá-rosa, não demonstrou diferença estatística em nenhuma das variáveis avaliadas aos 90 dias de cultivo *in vitro*. Ou seja, visando a micropropagação de mudas de *C. legalis*, a ausência de sacarose não compromete o crescimento e o desenvolvimento do explante, associada a tampas com membrana microporosa de politetrafluoretileno que permitam a troca gasosa entre o microambiente *in vitro* e o ambiente *ex vitro*, favorecendo um bom aparato fotossintético e suprindo as necessidades nutricionais da planta. A remoção da sacarose na composição do meio de cultura contribui tanto para a redução dos custos de uma micropropagação em larga escala quanto podendo acarretar a diminuição da taxa de contaminação por vírus e bactérias, que competem por fonte de carbono junto ao explante *in vitro*, reforçando a viabilidade dessa estratégia para a conservação de uma espécie ameaçada de extinção.

Referências

ABDALLA, Neama et al. An academic and technical overview on plant micropropagation challenges. **Horticulturae**, v. 8, n. 8, p. 677, 2022. https://doi.org/10.3390/horticulturae8080677.

ALVES, G. L.; PINHEIRO, M. V. M.; MARINHO-DUTRA, T. R. *et al.* Photoautotrophic potential and photosynthetic competence in *Ananas comosus* [L.] Merr. cultivar Turiaçu in vitro culture systems. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, v. 60, p. 131-146, 2024. https://doi.org/10.1007/s11627-023-10410-z.

ARAÚJO, D. X. *et al.* Photon flux density and wavelength influence on growth, photosynthetic pigments and volatile organic compound accumulation in *Aeollanthus suaveolens* (Catinga-de-mulata) under in vitro conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 168, e113597, 2021. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113597.

CARRARI-SANTOS, R.; VETTORAZZI, R. G.; OLIVEIRA, T. dR. *et al.* Aprimoramento do crescimento e desenvolvimento in vitro de brotos de *Dalbergia nigra* utilizando membranas microporosas. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 158, p. 34, 2024. https://doi.org/10.1007/s11240-024-02828-z.

CASTRO-CAMBA, R.; VIELBA, J. M.; COVELO, P.; VIDAL, N.; SÁNCHEZ, C. Reducing costs, improving profits: a low-cost culture media for woody plants micropropagation. **Journal of Forest Science**, v. 69, n. 9, p. 377-388, 2023. DOI: 10.17221/56/2023-JFS.

CIOĆ, M.; SZEWCZYK, A.; ŻUPNIK, M.; KALISZ, A.; PAWŁOWSKA, B. LED lighting affects plant growth, morphogenesis, and phytochemical contents of *Myrtus communis* L. in vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 132, n. 3, p. 433-447, 2018. https://doi.org/10.1007/s11240-017-1340-2.

DOS SANTOS, Gustavo Goes. Iluminação artificial e ácidos fúlvicos na produtividade de *Cyperus articulatus* L. 2024. 46 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP, 2024.

IAREMA, L. *et al.* In vitro propagation of *Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze (Lecythidaceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 34, n. 2, p. 153-161, 2012.

IUCN. **The IUCN Red List of Threatened Species**: *Cariniana legalis*. Version 2024.1. Disponível em: https://www.iucnredlist.org. Acesso em: 14 mar. 2026.

KUBOTA, S. *et al.* Atmospheric control and porous membranes in plant tissue culture. **Journal of Applied Botany**, v. 98, n. 4, p. 301-315, 2024.

MIELKE, M. S.; PINHEIRO, M. P.; DALMOLIN, Â. C.; SCHILLING, A. C.; SANTOS, M. S. dos; **CERQUEIRA, A. F.; SANCHES, M. C.; SOUSA-SANTOS, C.** Does leaf net carbon gain and damage explain the minimum thresholds of light for shade tolerance in seedlings of an emergent rainforest tropical tree? **Trees**, v. 37, n. 6, p. 1727-1741, 2023. https://doi.org/10.1007/s00468-023-02455-9.

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

OLIVEIRA JUNIOR, J. B.; PESSOA, C. M. P.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. *et al.* A simple, alternative and efficient sealing system to improve natural ventilation in culture vessels and the morphophysiological and anatomical quality of *Croton lechleri* (Muell. Arg.) grown *in vitro*. **Biologia**, v. 77, p. 2945-2954, 2022. https://doi.org/10.1007/s11756-022-01140-5.

RANGEL JUNIOR, Fábio Santos. Germinação in vitro de embriões de *Allagoptera leucocalyx* (Drude) Kuntze, uma palmeira em perigo de extinção, sob diferentes espectros de luz. 2024. 34 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) – Universidade de São Paulo, 2024.

REHMANI, Muhammad Saad *et al.* Estabelecimento de plântulas: a característica negligenciada no campo da longevidade de sementes. **Fisiologia e Bioquímica Vegetal**, v. 200, p. 107765, 2023. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.107765.

SAEEDI, Seyyed Arash *et al.* Growth, photosynthetic function, and stomatal characteristics of Persian walnut explants in vitro under different light spectra. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1292045, 2023. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1292045.

SILVÉRIO, Letícia Mendes Pinheiro**.** Acúmulo e partição de biomassa, nutrientes e carboidratos em cafeeiro arábica com e sem carga de frutos. 2025. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, 2025.

SOUZA, L. M. de *et al.* Cultivo Fotoautotrófico e Fotomixotrófico de Plantas In Vitro: Uma Revisão Sistemática Sobre o Uso da Técnica e suas Implicações na Produção de Mudas de Espécies Arbóreas. **Multidisciplinary Sciences Reports**, v. 3, n. 3, p. 1-20, 2023. https://doi.org/10.54038/ms.v3i3.42.

SURESH, S.; ELANGO, N.; SENTHIL, K. A comprehensive review on the in vitro culture techniques adopted for the genus *Phyllanthus*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 160, p. 74, 2025. https://doi.org/10.1007/s11240-025-03008-3.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Universidade Federal do Espírito Santo, campus Alegre – ES, junto ao programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal, com financiamento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (CAPES).