PROTOCOLO DE DESINFESTAÇÃO *IN VITRO* PARA TECIDOS FOLIARES DE *Euterpe edulis* MARTIUS

Joana Silva Costa[1], Camilly Aparecida Silva Lacerda[1], Simone Wellita Simão de Carvalho[2], Maria Alice Brandão Silva[2], Débora Pellanda Fagundes[2], José Carlos Lopes[2], Rodrigo Sobreira Alexandre[1]

[1]Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias/Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, Avenida Governador Lindemberg, 316, Centro, 29550-000, Jerônimo Monteiro - ES, Brasil, joanasilvacosta9@hotmail.com, lacerdaacamilly@gmail.com, rodrigosobreiraalexandre@gmail.com

[2]Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias/Departamento de Agronomia, Alto Universitário, S/Nº, Guararema, 29500-000, Alegre - ES, Brasil, simonewellita@gmail.com, alice.gestaoambiental@gmail.com, debora.pellanda@yahoo.com.br, jclufes@gmail.com

Resumo - A *Euterpe edulis* é uma espécie-chave da Floresta Atlântica, pois possui relevância econômica, social e principalmente ecológica. No entanto, o extrativismo predatório de seu palmito colocou a espécie na Lista Brasileira de Espécies Ameaçadas de Extinção, classificada como vulnerável, demandando estratégias biotecnológicas para sua conservação e propagação. Embora o cultivo *in vitro* via totipotência celular seja uma alternativa promissora, o estabelecimento de tecidos vegetais enfrenta limitações devido a contaminações endógenas e exógenas de difícil controle. Diante disso, objetivou-se com o presente trabalho analisar a eficiência de um protocolo de desinfestação para tecidos foliares de *E. edulis*, utilizando produtos que visam a eliminação de microrganismos em geral, e um bactericida específico. O protocolo de desinfestação testado não foi eficiente, resultando em 100% de contaminação dos explantes aos 14 dias de cultivo *in vitro*.

Palavras-chave: Juçara. Espécie vulnerável. Propagação.

Área do Conhecimento: Ciências Agrárias.

Introdução

Euterpe edulis Martius, popularmente conhecida como juçara, é nativa da Floresta Atlântica considerada como uma espécie-chave para manutenção da biodiversidade desse bioma, um dos mais degradados do Brasil (Godoy *et al*., 2022). Essa espécie possui relevância devido à sua importância ecológica, econômica e cultural, em que, seus frutos são comumente utilizados para produzir uma polpa semelhante ao açaí, além disso, possui aplicações na geração de renda e indústria de medicamentos e cosméticos (Fadden *et al*., 2008; Felzenszwalb *et al*., 2013).

No sul do Espírito Santo a *E. edulis* é explorada de maneira sustentável, isso ocorre devido a versatilidade da espécie ao produzir produtos não madeireiros, que podem ser explorados de maneira extrativista por agricultores e produtores da região. Em contrapartida, a espécie enfrenta desafios na manutenção da sua diversidade genética e propagação, já que está registrada na Lista Brasileira de Espécies Ameaçadas de Extinção, classificada como vulnerável, em decorrência ao extrativismo predatório do seu palmito que é considerado nobre, com qualidade e sabor superior aos demais do gênero *Euterpe* (Borges *et al*., 2011; Brasil, 2022).

Espécies ameaçadas de extinção, como a juçara, são comumente propagadas *in vitro* (Radomir *et al*., 2023). O cultivo *in vitro* pode ser iniciado em qualquer parte da planta, sendo elas, sementes, folhas, raízes, entre outras fontes de explantes, essa técnica fundamenta-se na totipotência celular, que possui como base a capacidade de utilização de uma única célula, que irá se dividir e formar um indivíduo multicelular, como por exemplo, formação de brotos e/ou raízes via organogênese ou embriões somáticos, que morfogeneticamente produz uma planta completa pela embriogênese somática (Verdeil *et al*., 2007; Smertenko; Bozhkov, 2014).

Uma das principais aplicações do cultivo *in vitro* é obter plântulas assépticas, que servem como fonte de explantes juvenis para estabelecimento de algumas plantas, como as lenhosas, que possuem elevada dificuldade no estabelecimento *in vitro*. Essa problemática pode acontecer em decorrência à dificuldade encontrada no processo de desinfestação de materiais *ex vitro*, que pode conter contaminações endógenas e exógenas de difícil controle (Silva *et al*., 2019). Diante disso, objetivou-se com essa pesquisa analisar um protocolo de desinfestação para tecidos foliares de *E. edulis*.

Metodologia

Foram utilizadas folhas imaturas como material vegetal, obtidas de plantas matrizes de *E. edulis* localizadas no município de Cachoeiro de Itapemirim, ES, Brasil, nas coordenadas 20° 38' 24,1" S e 41° 21' 13,4" W, em uma altitude de aproximadamente 390 m. Esse material foi transportado em caixas térmicas (Mor®) para o Laboratório de Sementes Florestais e Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, do Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAE-UFES), onde o experimento foi executado.

As folhas imaturas de *E. edulis* foram submetidas a um protocolo de desinfestação em câmara de fluxo laminar com álcool (70%, v v^{-1}) (Hexis®) por 1 min, hipoclorito de sódio (2,5%, v v^{-1}) (QBoa®) por 10 min, amoxicilina (3 g L^{-1}, Germed®) por 20 minutos seguidos por tríplice lavagem com água destilada e autoclavada. Após a desinfestação, esses explantes foram estabelecidos em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio MS (Murashige; Skoog, 1962) líquido, acrescido com 30 g L^{-1} de sacarose (Dinâmica®), 1 g L^{-1} de polivinilpirrolidona (Synth®), 0,1 g L^{-1} de mio-inositol (Sigma®), e 1 g L^{-1} de glutamina (Dinâmica®) e de caseína hidrolisada (Sigma®), sob pontes de papel. O cultivo desse material foi realizado em sala de crescimento, no escuro por 14 dias, a 27 ± 2 °C. Ao final desse período analisou-se a porcentagem de contaminação do material.

Resultados

O protocolo de desinfestação utilizado não foi eficiente no controle da contaminação dos tecidos foliares de *E. edulis*, refletindo em 100% de contaminação, majoritariamente fúngica, após 14 dias de estabelecimento.

Discussão

A ineficácia do protocolo, que ocasionou em 100% de contaminação aos 14 dias de cultivo, pode estar diretamente associada à inadequação na concentração e no tempo de exposição dos agentes desinfestantes que foram utilizados no presente trabalho. Apesar dos tempos de exposição estarem de acordo com o recomendado para outros explantes de *E. edulis* (Oliveira *et al*., 2022; Mello *et al*., 2023; Costa *et al*., 2024; Mello *et al*. 2024a, b, c; Fagundes *et al*., 2025; Costa *et al*., 2026).

Por outro lado, o aumento na dosagem ou tempo de exposição dos desinfestantes pode não resolver o problema, pois pode provocar fitotoxicidade e severa oxidação tecidual sem garantir a eliminação da microbiota endógena (Scherwinski-Pereira *et al*., 2012). Nesse sentido, para ajustar essas variáveis é necessário que alcance o equilíbrio ideal entre a desinfecção dos explantes e a manutenção de sua viabilidade. Uma alternativa seria realizar a otimização do processo, incluindo um fungicida no protocolo já existente, mantendo o tempo de exposição utilizado no presente trabalho.

Conclusão

O protocolo de desinfestação testado não foi eficiente para promover a assepsia de tecidos foliares de *E. edulis*, resultando em 100% de contaminação dos explantes após 14 dias de cultivo *in vitro*. Para trabalhos futuros, será necessário adequar a metodologia, podendo ser realizado um ajuste nos tempos de exposição, nas concentrações dos agentes desinfestantes e, principalmente, adicionando outros meios de desinfestação, sempre priorizando a manutenção da viabilidade dos explantes.

Referências

BORGES, G. S. C. *et al.* Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Res. Int.**, v. 44, p. 2128-2133, 2011.

BRASIL. Normative Instruction n° 148 of 7 December 2022. National list of endangered species. **Official Gazette of the Federative Republic of Brazil, Executive Branch, Executive Branch**, Brasília, DF, 7 dec. 2022. Section 1, p. 282.

COSTA, J. S. *et al*. The spermidine promotes maturation and tissue differentiation of somatic embryos of *Euterpe edulis* Martius, an endangered Atlantic Forest species. **In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant**, v. 60, p. 891-902, 2024.

COSTA, J. S. *et al.* Proteomic profile associated with the maturation of somatic embryos of *Euterpe edulis* under polyamine treatments in material derived from a single mother plant. **J. Plant Growth Regul.**, p. 1-17, 2026.

FAGUNDES, D. P. *et al.* Adult cell reprogramming in *Euterpe edulis* Martius: breakthrough in cloning of an endangered species. **Plant Cell Tiss. Organ Cult.**, v. 160, p. 44, 2025.

GODOY, R. C. B. *et al*. **Juçara (*Euterpe edulis* M.)**: importância ecológica e alimentícia. 21. ed. Paraná: Embrapa Florestas, 2022.

FADDEN, J. M. *et al*. **Extração caseira de polpa de juçara**: *Euterpe edulis* Martius. Paraná: Embrapa Florestas, 2008.

FELZENSZWALB, I. *et al*. Toxicological evaluation of *Euterpe edulis:* a potential superfruit to be considered. **Food Chem. Toxicol.**, v. 58, p. 536-544, 2013.

MELLO, T. *et al.* Cell reprogramming via direct somatic embryogenesis in an Atlantic Forest species vulnerable to extinction: *Euterpe edulis* stem segments induced with picloram. **Plant Cell Tiss. Organ Cult.**, v. 154, p. 131-140, 2023.

MELLO, T. *et al.* Chronological age, changes in DNA methylation, and endogenous hormone levels of explants promote somatic embryogenesis of *Euterpe edulis* Martius. **Plant Cell Tiss. Organ Cult.**, v. 157, p. 1-14, 2024a.

MELLO, T. *et al.* Optimization of somatic embryogenesis in *Euterpe edulis* Martius using auxin analogs and atomic force microscopy. **Sci. Hortic.**, v. 331, p. 113164, 2024b.

MELLO, T. *et al.* Somatic embryogenesis in *Euterpe edulis* Martius is improved by wounding, explant orientation, and suspension culture. **Plant Cell Tiss. Organ Cult.**, v. 156, p. 114, 2024c.

MURASHIGE, T. M.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.**, v. 15, p. 473-497, 1962.

OLIVEIRA, L. B. *et al.* Morphoanotomical aspects of auxin herbicides-induced somatic embryogenesis in *Euterpe edulis* Martius, a symbol and threatened species of the Atlantic Forest. **Sci. Hortic.**, v. 299, p. 111051, 2022.

RADOMIR, A. M. *et al.* Overview of the success of in vitro culture for ex situ conservation and sustainable utilization of endemic and subendemic native plants of Romania. **Sustainability**, v. 15, p. 2581, 2023.

VERDEIL, J. L. *et al.* Pluripotent versus totipotent plant stem cells: dependence versus autonomy? **Trends in Plant Sci.**, v. 12, p. 245-252, 2007.

SILVA, E. R. *et al.* In vitro germination of *Melanoxylon brauna* Schott. and evaluation of the toxicity of disinfecting agents in the *Lactuca sativa* L. model plant. **Cerne**, v. 25, p.375-385, 2019.

SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. *et al*. Somatic embryogenesis and plant regeneration in açaí palm (*Euterpe oleracea*). **Plant Cell Tiss. Organ Cult.**, v. 109, p. 501-508, 2012.

SMERTENKO, A.; BOZHKOV, P. V. Somatic embryogenesis: life and death processes during apical–basal patterning. **J. Exp. Bot.**, v. 65, p. 1343-1360, 2014.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), através da CHAMADA CNPq/MCTI Nº 44/2024 - Faixa B - Grupos Consolidados UNIVERSAL. E da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), através do Edital FAPES No. 20/2022 CHAMADA DE APOIO A NÚCLEOS CAPIXABAS EMERGENTES EM PESQUISA. Protocolo: 51439.797.19068.30092022. No. FAPES: 1038/2022P:2022-S76C7, e do Edital FAPES 22/2025 - CHAMADA DE APOIO A NÚCLEOS CAPIXABAS DE EXCELÊNCIA EM PDI - Processo 2025-GPJ0X.