EFEITO DA SACAROSE NO CULTIVO *IN VITRO* DE JEQUITIBÁ ROSA EM FRASCOS VEDADOS COM PVC SOB LUZ BRANCA

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

Universidade 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, encontra-se ameaçada de extinção e apresenta entraves fisiológicos característicos da propagação *in vitro* convencional. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da sacarose no desenvolvimento inicial in vitro de *C. legalis* cultivada em frascos vedados com policloreto de vinila (PVC), impermeável às trocas gasosas, sob luz LED branca. Sementes desinfestadas foram inoculadas em meio MS acrescido de 30 g L^{-1} de sacarose ou em meio MS sem sacarose, em delineamento inteiramente casualizado, com avaliações aos 90 dias de cultivo. Os dados foram submetidos à análise de variância nas quais foram observadas diferenças estatísticas entre os meios com e sem sacarose para comprimento de parte aérea, número de folhas, segmentos nodais e raízes, indicando que, na condição de vedação impermeável, a supressão do carboidrato exógeno não foi suficiente para induzir resposta fotoautotrófica compensatória na fase inicial de estabelecimento.
Palavras-chave: *Cariniana legalis*. MS. Sacarose. Vedação impermeável.

Área do Conhecimento: Botânica.

Introdução

A micropropagação *in vitro* é uma das áreas da biotecnologia vegetal empregada para multiplicar plântulas geneticamente uniformes em curto espaço de tempo, sendo especialmente relevante para espécies cuja propagação vegetativa apresenta baixa eficiência, ou cuja propagação por sementes é limitada pela dificuldade de obtenção de material em quantidade e qualidade suficientes para produção em larga escala (Suresh; Elango; Senthil, 2025).

A procura por otimização de protocolos é particularmente evidente para espécies ameaçadas de extinção, caso da espécie *Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze, conhecida popularmente como jequitibá-rosa, pertencente à família Lecythidaceae e espécie símbolo do estado do Espírito Santo, ocorrendo em fragmentos de Mata Atlântica (Kubota *et al.*, 2024). Em razão da fragmentação de seu habitat e da baixa taxa de regeneração natural, encontra-se classificada como "em perigo" (EN) na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN (2024). A cultura de tecidos vegetais viabiliza a produção de propágulos em larga escala sem impacto sobre as populações remanescentes (Iarema *et al.*, 2012).

Na técnica convencional de micropropagação *in vitro*, denominada fotomixotrófica, o meio de cultura é sempre enriquecido com sacarose, principal fonte de carbono exógeno para o propágulo, suprindo a limitação fotossintética imposta pela baixa disponibilidade de CO_2 e atuando também como molécula sinalizadora de processos de desenvolvimento vegetal (Lapa *et al.*, 2025; Yu *et al.,* 2025).

Esse sistema, contudo, é frequentemente restringido por entraves fisiológicos associados ao ambiente controlado. Entre eles estão a hiperidratação (vitrificação) dos tecidos, a formação excessiva de calos na base dos explantes e o desenvolvimento de folhas mais finas, com epiderme pouco diferenciada e reduzida densidade de tricomas (Iarema *et al.*, 2012; Abdalla *et al.,* 2022). Tais alterações comprometem a funcionalidade estomática, reduzem a formação de cera epicuticular e diminuem a capacidade fotossintética das plântulas, tornando a etapa de aclimatização *ex vitro* ainda

mais crítica (Abdalla *et al.,* 2022). Soma-se a isso o fato de que o uso da sacarose não é isento de efeitos adversos: o aumento de sua concentração no meio eleva o potencial osmótico, dificultando a absorção de água pelas plântulas e podendo restringir o crescimento de brotos e raízes (Sajid; Aftab, 2022). O trabalho teve como objetivo avaliar, de forma isolada, o efeito da presença e da ausência de sacarose no meio de cultura sobre a germinação e o desenvolvimento inicial *in vitro* de *C. legalis* mantida sob vedação impermeável (PVC) e luz LED branca, como recorte de um experimento fatorial mais amplo conduzido pelo grupo de pesquisa (Martins, 2026).

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.

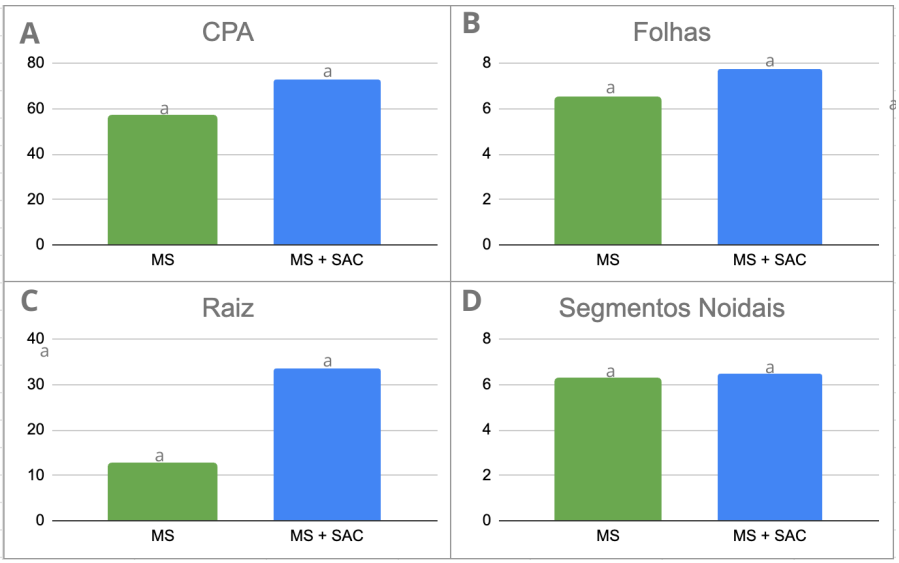
Após a desinfestação, as sementes foram inoculadas em meio de cultura basal MS (MURASHIGE 1974) acrescido de 4,4 g L^{-1} de sais e 7,5 g L^{-1} de ágar, testando-se duas suplementações: com e sem adição de 30 g L^{-1} de sacarose. Foram utilizados potes de vidro (capacidade de 600 mL; 12 cm de altura 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 policloreto de vinila (PVC), 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 branca (Full Spectrum, Grow Light, 665 e 450 nm) com irradiância de 25 µmol

Resultados

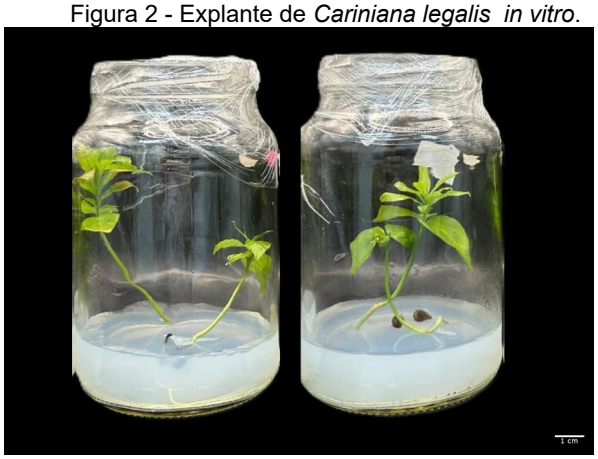
A normalidade dos dados morfométricos de comprimento da parte aérea (CPA), número de raízes, número de folhas e número de segmentos nodais foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk ($p<0,05$), separadamente para cada combinação de meio de cultura (MS e MS+SAC), dentro do sistema de vedação com filme de policloreto de vinila (PVC), sob o regime luz LED branca. Nos 90 dias de cultivo *in vitro* que as plântulas de *C. legalis* foram mantidas, a análise de variância não revelou efeito significativo do fator comprimento da parte aérea e o número de raízes mantendo distribuição normal em ambos os meios de cultura, com W variando de 0,8790 a 0,9754 e p sempre superior a 0,33. Entretanto, as variáveis número de folhas e número de segmentos nodais, no tratamento sem sacarose (MS), apresentaram desvio significativo da normalidade, com W=0,7286 (p=0,0239) e W=0,7622 (p=0,0499), respectivamente. Esse resultado está associado à distribuição marcadamente bimodal observada nas replicatas desse grupo, nas quais duas plântulas não desenvolveram folhas nem segmentos nodais, enquanto as outras duas atingiram valores elevados.

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



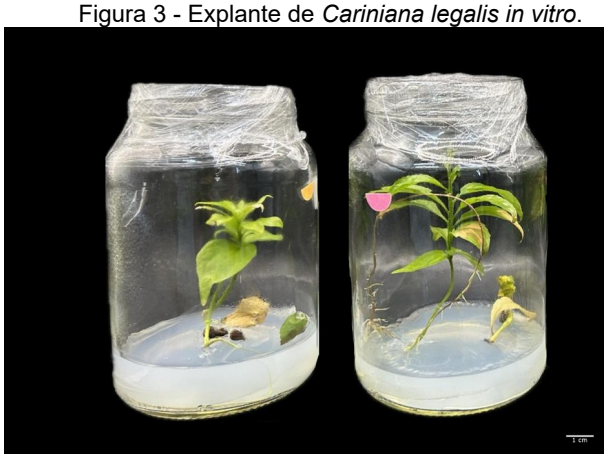
Legenda: A - Comprimento de parte aérea (mm), B - Número de folhas, C - Comprimento de raiz (mm) D - Número de segmentos. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Shapiro-Wilk (P<0,05) Fonte: Próprio autor (2026).

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



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

Figura 3 - Explante de *Cariniana legalis in vitro*.



Legenda: 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

A ausência de diferença estatística entre os meios com e sem sacarose, sob vedação com PVC, está em consonância com a hipótese de que a simples retirada do carboidrato exógeno, sem incremento correspondente nas trocas gasosas, não é suficiente para induzir uma resposta fotoautotrófica compensatória. Como discutido por Mariano *et al.* (2026), a literatura frequentemente atribui o conceito de fotoautotrofia a sistemas que associam baixa concentração de sacarose ao uso de membranas microporosas, responsáveis por permitir a assimilação efetiva de CO_2 atmosférico; na ausência dessas membranas, como ocorre na vedação com PVC, a planta permanece limitada pela baixa concentração interna de CO_2, decorrente do metabolismo respiratório do próprio microambiente fechado (Saeedi *et al.,* 2023).

Esse resultado também pode ser interpretado à luz da resposta espécie-específica descrita por Núñez-Ramos *et al.* (2021), que constataram, para *Caesalpinia spinosa*, desempenho semelhante entre meios com e sem sacarose durante o estabelecimento inicial *in vitro.* Por outro lado, para espécies como *Dalbergia nigra,* a sacarose mostrou-se associada à maior índice fotossintético quando combinada a estratégias de ventilação (Carrari-Santos *et al.,* 2024), reforçando que a resposta ao carboidrato depende tanto da espécie quanto do sistema de vedação empregado.

Adicionalmente, deve-se considerar que a elevação da concentração de sacarose no meio de cultura pode gerar estresse osmótico, reduzindo a absorção de água e, em determinadas espécies, o próprio crescimento de brotos e raízes (Sajid; Aftab, 2022). No presente estudo, contudo, tal efeito osmótico negativo não foi suficiente para diferenciar estatisticamente os tratamentos, sugerindo um equilíbrio entre o potencial benefício da fonte de carbono exógena e o custo osmótico imposto por sua presença, na condição específica de vedação impermeável e luz branca avaliada.

Por fim, a manutenção da vedação com PVC, embora amplamente utilizada na micropropagação convencional, mostra-se pouco compatível com estratégias de redução de sacarose voltadas à obtenção de plântulas fotoautotroficamente mais eficientes, uma vez que a baixa concentração de CO_2 e o acúmulo de etileno característicos desse sistema tendem a comprometer o desenvolvimento do aparato fotossintético (Abdalla *et al.,* 2022). Os resultados reforçam a relevância de se avaliar, em etapas futuras do projeto, o comportamento de *C. legalis* em vedações que permitam trocas gasosas, como as membranas de politetrafluoretileno, de modo a verificar se a retirada da sacarose associada à ventilação adequada proporciona resposta distinta da observada sob PVC.

Conclusão

Nas condições avaliadas, a presença ou a ausência de sacarose no meio de cultura não influenciou significativamente o comprimento da parte aérea, o número de folhas, o número de segmentos nodais e o número de raízes de plântulas de *Cariniana legalis* cultivadas em frascos vedados com policloreto de vinila (PVC) sob luz LED branca,durante os 90 dias de cultivo *in vitro.* Esse resultado indica que, sob restrição total de trocas gasosas, a retirada do carboidrato exógeno não foi suficiente, nessa fase inicial, para induzir alterações morfológicas compensatórias associadas à fotoautotrofia.

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

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

IAREMA, L.; CRUZ, A. C. F.; SALDANHA, C. W.; DIAS, L. L. C.; VIEIRA, R. F.; OLIVEIRA, E. J.; OTONI, W. C. Photoautotrophic propagation of Brazilian ginseng [Pfaffia glomerata (Spreng.) Pedersen]. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 110, n. 2, p. 227-238, 2012. DOI: 10.1007/s11240-012-0145-6

KUBOTA, T. Y. K.; HALLSWORTH, J. E.; SILVA, A. M.; MORAES, M. L. T.; CAMBUIM, J.; CORSEUIL, C. W.; SEBBENN, A. M. Pollen dispersal and mating patterns determine resilience for a large-yet-fragmented population of Cariniana estrellensis. **Conservation Genetics,** v. 25, p. 117-132, 2024. DOI: 10.1007/s10592-023-01557-8

LAPA, Carlos Henrique Alves et al. Efeito da sacarose na viabilidade polínica de Campomanesia xanthocarpa (Mart.) O. Berg e Myrcianthes pungens Berg. (Myrtaceae). **Acta Biológica Catarinense**, v. 12, n. 3, p. 21-28, 2025. https://doi.org/10.21726/abc.v12i3.2687

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. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

NÚÑEZ-RAMOS, J. E.; QUIALA, E.; POSADA, L.; MESTANZA, S.; SARMIENTO, L.; DANIELS, D.; ARROYO, C. R.; NARANJO, B.; VIZUETE, K.; NOCEDA, C.; GÓMEZ-KOSKY, R. Morphological and physiological responses of tara (Caesalpinia spinosa (Mol.) O. Kuntz) microshoots to ventilation and sucrose treatments. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant,** v. 57, p. 1-14, 2021. https://doi.org/10.1007/s11627-020-10104-w

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

SAJID, Zahoor Ahmad; AFTAB, Faheem. Melhoria da tolerância ao estresse osmótico induzido por polietilenoglicol, sorbitol, manitol e sacarose através da modulação de poliaminas, proteínas e atividade da superóxido dismutase em batata. **International Journal of Agronomy,** v. 2022, art. 5158768, 14 p., 2022. https://doi.org/10.1155/2022/5158768

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

YU, S.; LI, K. H.; SONG, H. L. et al. Diodos emissores de luz afetam o crescimento de plântulas de Spathiphyllum cannifolium regulando a fotossíntese e o metabolismo da sacarose durante o enraizamento ex vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture,** v. 160, p. 57, 2025. https://doi.org/10.1007/s11240-025-02986-8

MARIANO, Gustavo Fernandes; SCOTÁ, Mayla Bessá; SILVA, Warley Costa; MARTINS, Ewelin Nunes; VITOR, Thalya Campelo; MONTEIRO, Kátia Aguiar de Souza; ALVES, Mateus Rodrigues; WERNER, Elias Terra. Fotoautotrofia e fotomixotrofia de plantas micropropagadas in vitro. In: WERNER, Elias Terra; CAVATTE, Paulo Cezar; BATITUCCI, Maria do Carmo Pimentel (org.). I **Tópicos Especiais em Biologia Vegetal**: Contribuições do PPGBV/UFES: Fisiologia, Biodiversidade e Conservação de Organismos Fotossintetizantes. 1. ed. Campos dos Goytacazes: Encontrografia, 2026. cap. 6, p. 1-13. DOI 10.52695/978-65-5456-195-2.

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).