

ARTIGOS

A internacionalização do programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais da UFSC

Ingrid Lohani Degering Brand^{1*}, Jorge Andrés Betancur González¹, Francisco Sebastian Montoya Serrano² e Valdir Marcos Stefenon³

Resumo

A internacionalização da pós-graduação no Brasil tem se consolidado como uma estratégia essencial para o desenvolvimento científico, tecnológico e econômico do país. Este artigo tem como objetivo relatar a trajetória de internacionalização do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais (RGV) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), destacando sua criação, estratégias, conquistas e desafios. Desde sua fundação em 1997, o RGV tem se destacado como um programa de excelência CAPES, com uma atuação global marcada por parcerias internacionais, mobilidade acadêmica e produção científica de impacto. O artigo também aborda as iniciativas de internacionalização do RGV, como o engajamento em programas CAPES-PrInt e PDSE, a atração de estudantes e pesquisadores estrangeiros, e a formação de redes colaborativas com instituições de diversos países. Além disso, são discutidos os desafios enfrentados, como o alto custo de vida em Florianópolis e os cortes orçamentários recentes, bem como as perspectivas futuras para a consolidação do programa no cenário global, com foco em sustentabilidade, preservação da biodiversidade e novas parcerias estratégicas.

Palavras-Chave: Desenvolvimento científico; cooperação internacional; intercâmbio; mobilidade acadêmica; PPGRGV.

Abstract

The internationalization of the Graduate Program in Plant Genetic Resources at UFSC. The internationalization of graduate programs in Brazil has become a key strategy for the country's scientific, technological, and economic development. This article aims to report the trajectory of internationalization of the Graduate Program in Plant Genetic Resources (RGV) at the Federal University of Santa Catarina (UFSC), highlighting its creation, strategies, achievements, and challenges. Since its establishment in 1997, RGV has stood out as a CAPES excellence program, with a global presence marked by international partnerships, academic mobility, and impactful scientific production. The article also addresses RGV's internationalization initiatives, such as engagement in CAPES-PrInt and PDSE programs, attracting foreign students and researchers, and forming collaborative networks with institutions from various countries. Additionally, the challenges faced by the program are discussed, including the high cost of living in Florianópolis and recent budget cuts, as well as future perspectives for consolidating RGV's position in the global scenario, with a focus on sustainability, biodiversity preservation, and new strategic partnerships.

Keywords: Academic mobility; fellowship; international collaboration; PPGRGV; scientific development.

¹ Alunos de doutorado do PPG Recursos Genéticos Vegetais, UFSC, Rod. Admar Gonzaga, 1346, CEP 88034-000, Florianópolis, SC, Brasil

* E-mail: ingrid.brand@hotmail.com

² Pós-doutorando no PPG Recursos Genéticos Vegetais, UFSC, Rod. Admar Gonzaga, 1346, CEP 88034-000, Florianópolis, SC, Brasil

³ Coordenador do PPG Recursos Genéticos Vegetais, UFSC, Rod. Admar Gonzaga, 1346, CEP 88034-000, Florianópolis, SC, Brasil

Introdução

A internacionalização da pós-graduação no Brasil tem se consolidado como uma estratégia essencial para o desenvolvimento científico, tecnológico e econômico do país (NEVES e BARBOSA, 2020). Desde a década de 2000, a CAPES tem fomentado políticas e programas que incentivam a cooperação internacional, a mobilidade acadêmica e a inserção global das instituições brasileiras (PAIVA e BRITO, 2019; ARAÚJO e FERNANDES, 2021). Posicionando o Brasil como uma potência científica emergente, com um aporte de 2,59% de publicações científicas do total mundial entre os anos 2007 e 2011 (RAMOS, 2018).

Os processos de internacionalização dos programas de pós-graduação possuem uma relação direta com a globalização. Sabendo que, a globalização fundamentalmente é um processo econômico, não é isolado de outras esferas da vida social, como cultura e educação, entre outras. Neste contexto, surge a necessidade da interlocução dos conhecimentos técnico-científicos e integração entre instituições de ensino superior para fortalecer os avanços nas diferentes áreas do conhecimento (BERWIG e CARRARO, 2023).

Nesse contexto, o Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais (RGV) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) emerge como um exemplo de sucesso, observando as diretrizes nacionais e internacionais para a formação de recursos humanos qualificados e a geração de conhecimento inovador e valorizando a formação internacional de alunos e docentes.

Através de parcerias com instituições estrangeiras, programas de mobilidade acadêmica e atração de alunos e pesquisadores internacionais, o RGV vem expandindo sua atuação global. O programa, que visa caracterizar, conservar e melhorar os recursos genéticos vegetais, tem sua visibilidade internacional fortalecida pelo engajamento em iniciativas como o Projeto PrInt (CAPES, 2020) e PDSE (CAPES, 2014). Além disso, a diversidade cultural e acadêmica do RGV é enriquecida pelas experiências de intercâmbio entre alunos e professores, tanto de brasileiros no exterior, quanto de estrangeiros no Brasil.

Este artigo relata a trajetória de internacionalização do RGV, com foco em sua criação, história, suas estratégias, conquistas e desafios. Também são apresentadas as perspectivas futuras para a consolidação e continuação da atuação do programa no cenário global, alinhadas com as diretrizes do Plano Nacional de Pós-Graduação (PNPG 2025-2029).

Criação e ascensão do RGV

Na década de 1970 com a crescente apreensão em relação à perda da biodiversidade, às mudanças climáticas e à segurança alimentar, intensificada após a Conferência do Clima de Estocolmo em 1972, junto a criação do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) em 1975 motivou a concepção de um Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. A necessidade de alinhar o Brasil às discussões globais sobre o tema impulsionou a criação do programa. O caminho para sua implementação foi traçado por um plano estratégico de 1983, voltado à formação de professores doutores no Departamento de Fitotecnia do CCA/UFSC, departamento que atualmente abriga o PPGRGV. As linhas de pesquisa iniciais foram em Botânica e Meio ambiente com o Núcleo de Pesquisa em Florestas Tropicais (NPFT) e cultura de tecidos com o Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV). Atualmente, o programa conta com cinco linhas de pesquisa: Biologia Reprodutiva e Fluxo Gênico; Caracterização, Coleta e Conservação de Germoplasma; Ecologia e Manejo Sustentável de Plantas; Fisiologia do Desenvolvimento e Metabolismo; e Genética e Melhoramento de Plantas.

Com a estruturação de um plano de formação de pessoas, de apenas dois professores com doutorado na década de 1980, o Departamento de Fitotecnia já contava com 16 doutores em 1995, ano em que a proposta do PPG começou a se estruturar. Aqui, uma ideia coletiva de necessidade de preservação e sustentabilidade se torna ainda mais forte, principalmente com a Eco-92, que dá origem à Convenção sobre Diversidade Biológica (CDB, 1992). Assim, alinhados aos objetivos da convenção e ao assunto eminente, nossos professores fundadores — Rubens Onofre Nodari, Miguel Pedro Guerra, Maurício Sedrez dos Reis e Paulo Emilio Lovato — escrevem a proposta de criação do curso de Pós-Graduação enviado à CAPES, visando ajudar a solucionar os desafios na área de recursos genéticos vegetais da época (GUERRA et al., 1998).

Com a proposta de criação do programa submetida e aprovada pela CAPES em 1997, nasce o curso de mestrado, com conceito de base 3 no ano de 1998. Cabe salientar que o PPG foi pioneiro em Recursos Genéticos Vegetais no Brasil. Depois, logo na primeira avaliação trienal em 2001, o PPG é elevado para conceito 4, possibilitando assim a abertura do curso de doutorado no seguinte ano, 2002. Em 2003 e 2007, o curso é avaliado com conceito 5 e, finalmente, destaca-se como programa de excelência CAPES, atingindo o conceito 6 em 2010, que se mantém até o presente.

Internacionalização

O rápido avanço do PPGRGV foi motivado principalmente pelas pesquisas e parcerias dos docentes e discentes com instituições internacionais – como Leiden University (Leiden, Holanda), Universidade de Alicante (Alicante, Espanha), Fundação Edmund Mach (Itália), Julius Kühn Institute (Alemanha), GenOk - Center of Biosafety (Noruega), Universidad Técnica de Manabí (Equador) e a Universidade de Göttingen (Alemanha) – bem como de parceria de pesquisa com instituições de pesquisa nacionais – EPAGRI/SC, EMBRAPA/CENARGEN e INPA/Manaus.

O interesse de estudantes estrangeiros no PPGRGV surgiu a partir de pesquisas em biodiversidade realizadas pelos professores e palestras ministradas em universidades da América Latina (Peru, Equador e Argentina). Em 2010, o PPGRGV firmou parceria com a Universidade Agostinho Neto (Angola), auxiliando na estruturação do mestrado em Recursos Fitogenéticos e promovendo intercâmbio de conhecimento e recursos humanos: docentes brasileiros ministraram disciplinas em Angola e alunos angolanos realizaram pesquisas e disciplinas no PPGRGV. Até o momento, estudantes de 12 países (Angola, Argentina, Bolívia, Colômbia, Cuba, Equador, Estados Unidos, México, Moçambique, Panamá, Peru e Uruguai) concluíram pós-graduação no PPGRGV (Figura 1).

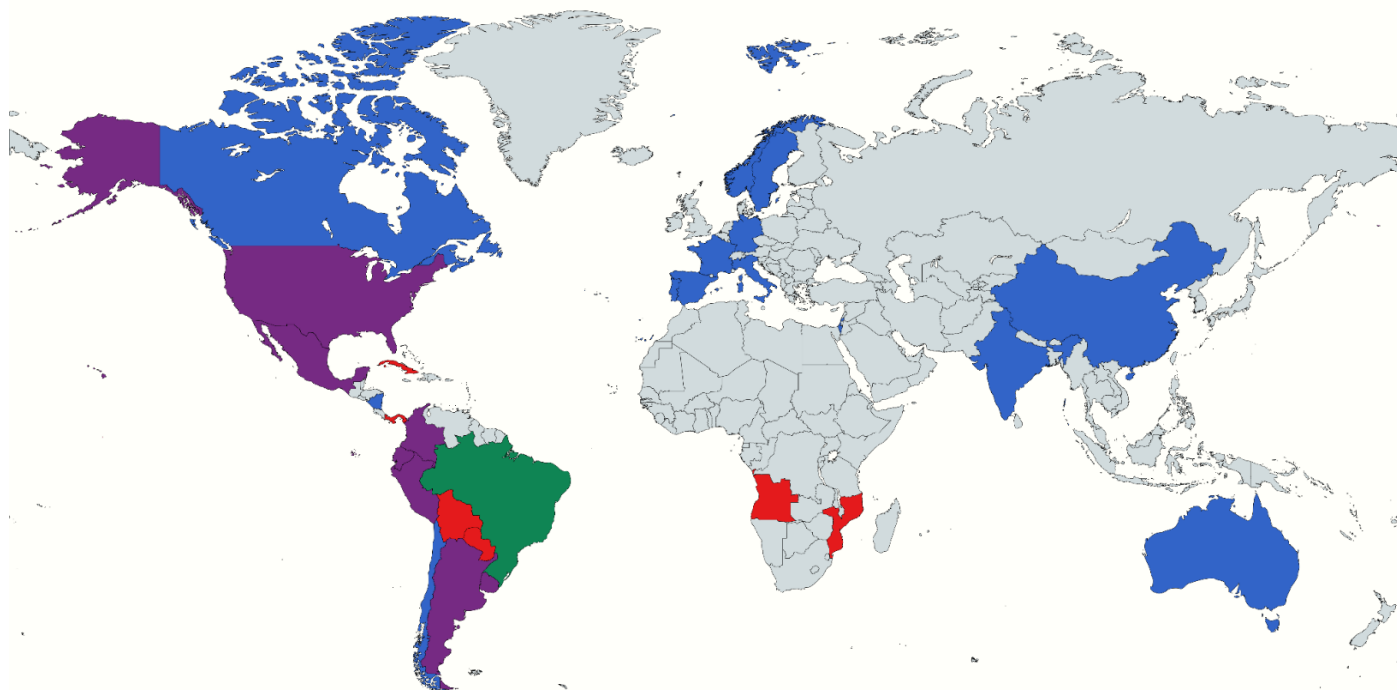


Figura 1. Origem e destino dos alunos do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. Os países estão codificados por cores para indicar sua relação com o programa. Verde: Brasil, o país sede do programa. Vermelho: Países de origem dos estudantes estrangeiros que ingressaram no programa. Azul: Países de destino dos estudantes egressos do programa. Roxo: Países que enviaram estudantes para o programa e também receberam estudantes ou egressos do programa.

Os alunos do PPGRGV também demonstraram interesse por uma formação mais globalizada devido aos programas de incentivo à ciência, como os da CAPES e CNPq. Exemplos disso são os programas PDSE e PrInt, sendo este último responsável pela seleção de discentes do PPGRGV para doutorado sanduíche entre 2019 e 2024, dentro do subprojeto “Caracterização, conservação e uso sustentável da biodiversidade” e pela mobilidade de docentes do RGV para universidades estrangeiras como Professor Visitante e vice-versa. No início do projeto, em 2019, era obrigatória a indicação prévia das instituições parceiras pelo PPG, o que restringia as opções de mobilidade para alunos e docentes. Posteriormente, essa regra foi flexibilizada, possibilitando novas parcerias internacionais para o programa e permitindo que os alunos escolhessem a instituição de acordo com seu projeto de pesquisa.

Isso se reflete na atuação de alunos e egressos em pelo menos 23 países (Figura 1), em oportunidades como estágios, doutorado sanduíche, pós-doutorado, missões científicas e cargos diversos como pesquisador, professor e técnico. Essas oportunidades são resultado da formação de impacto internacional e do *networking* proporcionado pela pós-graduação no PPGRGV.

Uma visão dos alunos estrangeiros

A pós-graduação sempre é vista como uma conquista desde o primeiro momento, ao ser aceito no processo seletivo, porém não se pode depreciar todo o processo prévio. Esse caminho, embora desafiador, resulta em um aprendizado que ultrapassa os limites da escolha da universidade, programa de pós-graduação e cidade. Este percurso, começa na busca de programas com reconhecimento nacional e internacional que possua as linhas de pesquisa desejadas para o campo laboral de preferência. Seguido do processo seletivo que pode apresentar novos desafios burocráticos, culturais, institucionais e de idioma, embora este não seja uma barreira intransponível precisa de um período de ajustes.

No contexto de programas no Brasil, a entrada de alunos estrangeiros tem bifurcações dependendo do lugar de moradia do aspirante ao programa. Visto que é mais fácil quando o candidato já mora no Brasil, ao ter feito grande parte da documentação necessária previamente e estar mais adaptado ao ambiente, idioma e à cultura; possuir CPF, visto e conta bancária já no Brasil. Caso contrário, quando o candidato ao PPG ainda está no exterior enfrenta possíveis gargalos de informação sobre a documentação requerida (incluindo a supracitada), requisitos que só podem ser realizados uma vez no Brasil e tipo de visto que pode-se obter (Visto de estudante, visto Mercosul ou de residência temporal) de acordo às exigências do programa. Um exemplo disto, desde experiências prévias de alunos, que estando no seu país de origem obtiveram o visto de estudantes, que tem duração de um ano e ao chegar no Brasil, mudaram para o visto de residência temporal do Mercosul que tem duração de dois anos (com possibilidade de renovar/trocar para visto de residência permanente ao vencimento do temporário) incorrendo em novos gastos.

Outro desafio enfrentado pelos estudantes estrangeiros é a escolha, contato e comunicação com o orientador, uma vez que apesar de conhecerem o orientador selecionado através do currículo Lattes, a experiência pessoal com o pesquisador pode ser totalmente diferente. Essa experiência pode ajudar consideravelmente na formação do estudante ou, pelo contrário, tornar-se mais um desafio a ser superado, levando em consideração que o discente terá que conviver integralmente no período de duração da pós-graduação com o orientador e colegas em um ambiente inicialmente desconhecido e culturalmente diferente, o que pode dificultar o desenvolvimento tanto profissional, quanto pessoal.

No PPG em Recursos Genéticos Vegetais, alguns destes processos são facilitados para os aspirantes a ingressarem ao programa, tendo possibilidades de, no caso dos aspirante a mestrado, realizar a prova escrita (dependendo da disponibilidade) no país de origem; e para mestrado/doutorado, entrevista de forma on-line, assim como envio de documentação de forma virtual (é necessário apresentação da documentação original posteriormente ao programa). Além disso, ao contar com experiências e acompanhamento de estudantes estrangeiros já vinculados ao programa, brinda-se ajuda para os novos estudantes, compartilhamento de informação e condução dos processos burocráticos, o que evita problemas anteriormente vividos.

De modo semelhante, uma vez já no programa, conta-se com professores políglotas que ajudam no entendimento de estudantes estrangeiros no processo de aprender a língua portuguesa e no aprendizado dos conteúdos das disciplinas, contando com a oferta de disciplinas 100% em inglês e espanhol.

De forma resumida, as dificuldades enfrentadas por estudantes estrangeiros podem-se resumir em processos burocráticos dificultados para estrangeiros como abrir uma conta bancária, solicitação e decisão de visto de residência; aprimoramento da língua, afinidade com o orientador uma vez na convivência e saúde mental. Posteriormente a todo isto, o desenvolvimento do discente está afetado por fatores pessoais e não por influência do programa.

As perspectivas para um estudante estrangeiro que conclui o programa de pós-graduação RGV - UFSC incluem a capacidade de liderar projetos de pesquisa, aprimorar as habilidades de apresentação através da publicação de artigos

e apresentações em congressos. Ao explorar essas oportunidades, os estudantes estrangeiros podem ampliar suas opções profissionais em ambientes acadêmicos, governamentais ou privados, com foco na inovação científica e na resolução de desafios globais.

Desafios e triunfos

Ao longo dos seus 26 anos de história, o PPGRGV enfrentou diversos desafios. Por exemplo, apesar de atualmente todos os alunos que são aptos receberem bolsa de pós-graduação, o custo de vida em Florianópolis (cidade onde o Programa está alocado) é considerado um dos mais elevados do país, dificultando a prospecção de alunos de outros lugares do Brasil e do mundo, bem como a permanência de alunos naturais da cidade. Ao encontro disso, apesar do reajuste considerável de cerca de 40% em 2023, ainda há defasagem tanto nas bolsas de mestrado e doutorado no Brasil como nos programas de doutorado sanduíche, dificultando a permanência de alunos no exterior e causando insegurança na hora de se inscrever para um programa de mobilidade.

Na nossa história recente, devemos lembrar ainda dos cortes nos orçamentos das universidades e dos órgãos de fomento à ciência como CAPES e CNPq entre os anos de 2015 e 2022. Além disso, no ano de 2020, em meio à pandemia de COVID-19, a mudança do modelo de concessão de bolsas da CAPES resultou em um corte de milhares de bolsas, impactando inclusive o PPGRGV, apesar de ser um curso de excelência. Nesse mesmo período de pandemia, os programas de intercâmbio na pós-graduação foram paralisados e as atividades presenciais foram restritas, impactando a pesquisa e a formação dos nossos discentes.

Por outro lado, o histórico de internacionalização do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos e o esforço coletivo de docentes e discentes nos levou a colher frutos significativos. Nos últimos anos, as publicações de artigos de impacto internacional se destacaram, como é exemplo do artigo com coautoria da Prof. Dra. Ana Catarina C. Jakovac na *Nature* (FLORES et al., 2024). Além disso, o Prof. Dr. Miguel P. Guerra destaca-se como um dos pesquisadores mais citados do mundo (H-Index Ranking, 2024) e o Prof. Dr. Tiago Olivoto consta como um dos pesquisadores mais influentes do mundo na lista Stanford (Ioannidis, 2024).

Outro aspecto importante da evolução científica do PPGRGV é a modernização da estrutura de seus laboratórios associados e da pesquisa desenvolvida, principalmente pensando em biotecnologia. Atualmente, os docentes e discentes do PPGRGV contam com a possibilidade de utilizar diferentes plataformas de sequenciamento de nova geração (NGS) e bioinformática, permitindo o estudo em genômica vegetal e de metagenomas. Outra pesquisa importante desenvolvida no PPGRGV utiliza a técnica de CRISPR/Cas9, possibilitando a edição gênica de maneira rápida e precisa. Essas e outras pesquisas desenvolvidas no PPGRGV permitem a manutenção da relevância do Programa no cenário nacional e internacional e a prospecção de novas parcerias com outros PPGs, instituições e universidades.

Perspectivas

Para assegurar a continuidade da relevância e do impacto internacional do PPGRGV, é crucial que o programa se ajuste constantemente aos desafios globais, com especial atenção para a crise climática e ambiental. Para atingir esse objetivo, as ações e projetos de cada linha de pesquisa devem dar prioridade à promoção da diversidade de cultivos, à preservação dos Recursos Genéticos Vegetais e à sustentabilidade, considerando a intensificação das crises ambientais.

Além disso, será fundamental dar continuidade às parcerias atuais e planejar novas parcerias estratégicas, com expertises complementares à do programa, com o objetivo de desenvolver pesquisa de ponta e prosseguir no caminho de internacionalização do PPGRGV. O essencial é que, mesmo diante de crises econômicas e ambientais, o PPG persista no esforço coletivo para preservar o legado internacional conquistado nos últimos 26 anos. Portanto, mesmo com o término do PrInt em 2024, devemos buscar novos projetos de internacionalização como o PNPG/CAPES 2025-2029, o CAPES GLOBAL e outras oportunidades que possam surgir.

É importante ressaltar que a adaptação contínua às mudanças globais e o foco na sustentabilidade ambiental e na preservação da biodiversidade são elementos-chave para manter o PPGRGV na vanguarda da pesquisa e garantir seu reconhecimento internacional. A busca por parcerias estratégicas e a participação em projetos de internacionalização também são aspectos cruciais para fortalecer a colaboração com outras instituições e ampliar o alcance e o impacto das pesquisas desenvolvidas pelo programa.

Dessa forma, o PPGRGV poderá continuar a contribuir significativamente para o avanço do conhecimento e para a busca de soluções para os desafios globais, consolidando sua posição como um programa de referência na área de Recursos Genéticos Vegetais e reforçando seu compromisso com a excelência e a inovação na pesquisa.

Agradecimentos

Ao querido professor Rubens Nodari, que aceitou contar a história do PPGRGV aos autores; à Bernadete Ribas (ou Berna), que nos ajudou com o banco de dados de alunos e egressos do Programa. Aos docentes, discentes e egressos do PPGRGV, que ajudaram a construir essa longa jornada pelo mundo.

Referências

ARAÚJO, A.C.; FERNANDES, L. Internacionalização e pós-graduação: a política de editais da Capes (2005-2018). *Avaliação: Revista da Avaliação da Educação Superior*, v. 26, n. 2, p. 587–605, 2021

BERWIG, S.E.; CARRARO, G. Internacionalização da pós-graduação: conexões entre Brasil, Cuba e Chile. *Argumentum*, v. 15, n. 2, p. 59-71, 2023.

CAPES. Programa Institucional de Internacionalização – CAPES - PrInt. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/capes/pt-br/acesso-a-informacao/acoes-e-programas/bolsas/bolsas-e-auxilios-internacionais/informacoes-internacionais/programa-institucional-de-internacionalizacao-capes-print>. Acesso em: 26.02.2025.

CAPES. Programa de Doutorado-sanduíche no Exterior (PDSE). 2014. Disponível em: <https://www.gov.br/capes/pt-br/acesso-a-informacao/acoes-e-programas/bolsas/bolsas-e-auxilios-internacionais/encontre-aqui/paises/multinacional/programa-de-doutorado-sanduche-no-exterior-pdse>. Acesso em: 26.02.2025.

FLORES, B.M.; MONTOYA, E.; SAKSCHEWSKI, B.; NASCIMENTO, N.; STAAL, A.; BETTS, R.A.; LEVIS, C.; LAPOLA, D.M.; ESQUÍVEL-MUELBERT, A.; JAKOVAC, C.; NOBRE, C.A.; OLIVEIRA, R.S.; BORMA, L.S.;

NIAN, D.; BOERS, N.; HECHT, S.B.; TER STEEGE, H.; ARIEIRA, J.; LUCAS, I.L.; BERENGUER, E. Critical transitions in the Amazon forest system. *Nature*, v. 626, n. 7999, p. 555–564, 2-24.

GUERRA, M.P.; NODARI, R.O.; REIS, M.S. dos; ORTH, A.I. A diversidade dos recursos genéticos vegetais e a nova pesquisa agrícola. *Ciência Rural*, v. 28, n. 3, p. 521–8, 1998.

H-Index Ranking. Best Scientists in Universidade Federal de Santa Catarina. Disponível em: <https://research.com/university/universidade-federal-de-santa-catarina>. Acesso em: 28.02.2025.

IOANNIDIS, J.P.A. August 2024 data-update for Updated science-wide author databases of standardized citation indicators. *PLOS Biology*, v. 7, 2024.

NEVES, C.E.B.; BARBOSA, M.L. de O. Internationalization of higher education in Brazil: advances, obstacles, and challenges. *Sociologias*, v. 22, n. 54, p. 144–175, 2020.

PAIVA, F.M.; BRITO, S.H.A. O papel da avaliação CAPES no processo de internacionalização da Pós-Graduação em Educação no Brasil (2010-2016). *Avaliação: Revista da Avaliação da Educação Superior*, v. 24, n. 2. p. :493–512, 2019.

RAMOS, M.Y. Internacionalização da pós-graduação no Brasil: lógica e mecanismos. *Educação e pesquisa*, v. 44, 2018.

***In vitro* buds and leaves development through indirect organogenesis in *Passiflora edulis* cv. ‘SCS437 Catarina’**

Bruna Ronchi Hermann^{1*}, Thiago Sanchez Ornellas², Danielle da Silva², Valdir Marcos Stefenon²

Abstract

The sour passionfruit ‘SCS437 Catarina’ (*Passiflora edulis*, Passifloraceae) is a cultivar tolerant to bacteriosis and anthracnose, produced in southern Brazil, which stands out on the national market due to the high quality of its fruits. This study aimed to test different concentrations of plant growth regulators (PGRs) for the induction of *in vitro* organogenesis in *P. edulis* cv. SCS 437 Catarina to establish a basic protocol for the clonal propagation of this cultivar. Although no statistically significant differences were found in some evaluated parameters (buds, leaves, and roots), treatments using 0.1 µM of 6-benzylaminopurine (BAP) combined with 0.1 µM or 0.5 µM of naphthaleneacetic acid (NAA) showed promising results regarding the induction of callogenesis, buds, leaves, and roots. Therefore, such combinations and concentrations are suggested to micropropagation of the passionfruit cultivar SCS 437 Catarina.

Keywords: Passionfruit, callogenesis, micropropagation, seedling production.

Resumo

Desenvolvimento *in vitro* de brotos e folhas através de organogênese indireta em *Passiflora edulis* cv. ‘SCS437 Catarina’. O maracujá-azedo ‘SCS437 Catarina’ (*Passiflora edulis*, Passifloraceae) é uma cultivar tolerante à bacteriose e à antracnose, produzida no sul do Brasil, que se destaca no mercado nacional pela alta qualidade de seus frutos. Este trabalho teve como objetivo testar diferentes concentrações de reguladores de crescimento vegetal (PGRs) para indução de organogênese *in vitro* em *P. edulis* cv. SCS 437 Catarina para estabelecer um protocolo básico para a propagação clonal desta cultivar. Embora não tenham sido encontradas diferenças estatisticamente significativas em alguns parâmetros avaliados (brotos, folhas e raízes), tratamentos utilizando 0,1 µM de 6-benzilaminopurina (BAP) combinado com 0,1 µM ou 0,5 µM de ácido naftalenoacético (ANA) apresentaram resultados promissores quanto à indução de calogênese, brotos, folhas e raízes. Portanto, tais combinações e concentrações são sugeridas para micropropagação da cultivar de maracujá SCS 437 Catarina.

Palavras-Chave: Maracujá; calogênese; micropropagação; produção de mudas.

Introdução

The genus *Passiflora* L. (Passifloraceae) includes a range of climbing plant species commonly known as passionfruit. The sour passionfruit (*P. edulis* Sims) is a valuable resource for agriculture and industry due to its high productivity, economic value, and multiple applications. Its cultivation holds significant importance since the fruits are used for fresh consumption and the manufacture of sweets, jellies, and juices. Additionally, plants of the *Passiflora* genus have applications in the pharmaceutical industry and folk medicine because of the active secondary metabolites such as passiflorin and tanoids (CUNHA et al., 2002).

¹ Curso de Graduação em Agronomia, Departamento de Fitotecnia, UFSC, Rod. Admar Gonzaga, 1346, CEP 88034-000, Florianópolis, SC, Brasil

² PPG Recursos Genéticos Vegetais, UFSC, Rod. Admar Gonzaga, 1346, CEP 88034-000, Florianópolis, SC, Brasil

* E-mail: brunaronchih@gmail.com

Brazil is considered a center of diversity of *Passiflora edulis* (BERNACCI et al., 2008) having approximately 150 native species of the genus (SILVA et al., 2020). Over the years, new genotypes of passionfruit have been selected and bred in the country, aiming at enhancing productivity and disease resistance. The passionfruit cultivar 'SCS437 Catarina' originated from a breeding program based on the mass selection of half-sibs in Santa Catarina State, South Brazil. It presents large, oval fruits with orange pulp, and a yellow, thick skin that avoids damage to the fruits during transportation (PETRY et al., 2019). The cultivar shows high adaptation to the climate and soil of southern Brazil, early production, high-quality fruits, and tolerance to *Xanthomonas axonopodis* pv. *Passiflorae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, and *Cladosporium herbarum*. The average productivity in orchards is 24 tons per hectare, but using advanced culture techniques and manual pollination, it can reach 90 tons per hectare in first-year crops (PETRY et al., 2019).

Currently, this cultivar is propagated through certified seeds. However, this strategy can lead to orchard heterogeneity due to genetic recombination (KHAS et al., 2020) and has the risk of build-up of diseases, mainly insect-transmitted viruses (ASANDE et al., 2020). Thus, establishing an *in vitro* clonal propagation protocol for the cultivar SCS437 Catarina offers numerous benefits, improving fruit production, homogeneity, and quality. Genetic uniformity ensures consistent size, shape, and flavor of plants and fruits, appealing to consumer markets. Moreover, cultivating seedlings under aseptic conditions minimizes disease presence, supplying farmers with healthier and more robust plants. In addition, micropropagated seedlings reduce pesticide use, lower production costs, and allow year-round production independent of weather conditions, offering production flexibility and control. Thus, micropropagation of passionfruit cv. SCS437 Catarina may be an efficient, sustainable, and economically viable approach for seedling production, enhancing farmer and consumer satisfaction with high-quality products. Biotechnological approaches can quickly multiply this improved cultivar and produce disease-free planting material (SHEKHAWAT et al., 2015). Although there are many reports of *in vitro* regeneration of *Passiflora edulis*, there is no report on micropropagation of cultivar SCS437 Catarina, an important genetic resource for passionfruit cultivation in Southern Brazil. Therefore, in this study, we aimed to establish a basic protocol for the *in vitro* clonal propagation of *Passiflora edulis* cv. SCS437 Catarina, testing the simultaneous use of cytokinin (BAP) and auxin (IAA) under different concentrations in the culture medium.

Material and Methods

The initial explants consisted of *in vitro* cultivated plantlets of passionfruit cv. SCS437 Catarina, obtained from certified commercial seeds (Morona & Viel Viveiros; Figure 1a). Seeds were germinated in MS medium (MURASHIGE; SKOOG, 1962) supplemented with 2.0 μM naphthaleneacetic acid (NAA) and 4.0 μM 6-benzylaminopurine (BAP) and maintained in a growth room with a light regime of 16/8 h (light/dark) provided by fluorescent white lamps and a temperature of $25 \pm 2^\circ\text{C}$ for plantlets growth. Under aseptic conditions, well-developed plantlets (Figure 1b) were split into nodal segments of approximately 1.0 cm and transferred to test tubes containing 12 mL of MS culture medium supplemented with 30 g L⁻¹ of sucrose, vitamins, 100 g L⁻¹ of myo-inositol, and plant growth regulators (PGRs) NAA, BAP, and TDZ (thidiazuron) in different concentrations and combinations (Table 1). The concentrations of PGRs used in this study were determined after a previous pilot test, in which the development of buds and leaves and spontaneous rooting were observed. The pH was adjusted to 5.8 before adding agar (6 g L⁻¹) and then autoclaved at 121°C, 1.5 atm for 15 min. Each treatment consisted of 10 replications with one explant per test tube, in a completely randomized design. All tubes were maintained in a growth room with a photoperiod of 16/8 h (light/dark) provided by fluorescent white lamps and $25 \pm 2^\circ\text{C}$ of temperature.

After sixty-five days, the rate of callogenesis induction (scored as a binary matrix for the presence or absence of calluses), the number of buds per explant, and the number of leaves per bud were evaluated. Spontaneous rooting in the explants was also recorded. The significance of the difference among treatments was determined using Fisher's exact test for the rate of callogenesis, and the Mann-Whitney pairwise test for the number of buds per explant and leaves per bud. Estimations were performed using the Past 4.15 software (HAMMER et al., 2001).

Results and Discussion

All treatments resulted in the formation of calluses, with the rate of callogenesis ranging from 38.9% to 100.0% (Table 1). According to Fisher's exact test, treatment T1 (0.1 NAA + 0.5 TDZ) presented a statistically significant higher callogenesis rate, while treatments T2, T3, T6, T7, and T8 are not statistically different concerning this parameter. Treatment T5 (0.1 NAA + 0.5 BAP) presented the lowest callogenesis rate, differing from all other treatments (Table 1).

No significant differences were observed for the mean number of buds per explant, which ranged from 0.9 to 3.2 (Table 1). Concerning the number of leaves per bud, the Mann-Whitney pairwise test revealed statistically significant differences among treatments. Treatment T6 (0.5 μ M NAA + 0. μ M 5 BAP) presented the highest mean number of leaves per bud, statistically differing from treatments T1, T2, T3, and T4. Interestingly, the highest number of leaves was not observed in the treatment with the highest number of buds per explant. Treatment T1 (0.1 μ M NAA + 0.5 μ M TDZ) presented a mean of 10.7 buds per explant and only 1.0 leaf per bud, while treatment T7 (0.1 μ M NAA + 0.1 μ M BAP) revealed a mean of 5.0 buds per explant and 10.0 leaves per bud, suggesting that these traits (number of buds per explant and number of leaves per bud) are not correlated (Pearson correlation: $r = -0.34$, $p = 0.40$). On the other hand, treatments that showed high callogenesis rates also tended to produce a greater number of buds per explant, revealing a weak non-significant relationship between callus formation and subsequent bud development (Pearson correlation: $r = 0.41$, $p = 0.31$).

Table 1. Means of the callogenesis rate and the mean de number of buds per explant and leaves per bud for *in vitro* cultivated *Passiflora edulis* Catarina, as a response to different concentrations and combinations of PGRs

PGR concentration (μ M)	Callogenesis (%)	Buds (SE)	Leaves (SE)
T1 (0.1 NAA + 0.5 TDZ)	100.0 (0.0) a	3.25 (0.9) a	0.30 (0.2) bc
T2 (0.5 NAA + 0.5 TDZ)	80.0 (0.42) b	1.25 (0.9) a	0.00 (0.0) c
T3 (0.1 NAA + 0.1 TDZ)	90.0 (0.32) b	2.50 (1.1) a	0.12 (0.0) bc
T4 (0.5 NAA + 0.1 TDZ)	60.0 (0.52) c	1.63 (0.8) a	0.37 (0.2) ab
T5 (0.1 NAA + 0.5 BAP)	40.0 (0.52) d	1.63 (0.6) a	1.80 (0.6) a
T6 (0.5 NAA + 0.5 BAP)	80.0 (0.42) b	1.13 (0.5) a	0.63 (0.3) ab
T7 (0.1 NAA + 0.1 BAP)	90.0 (0.32) b	1.25 (0.5) a	3.00 (1.5) ab
T8 (0.5 NAA + 0.1 BAP)	90.0 (0.32) b	1.75 (0.8) a	0.80 (0.6) abc

SE: standard error. Values followed by the same letter in the column do not differ according to Fisher's exact test (% of callogenesis) or Mann-Whitney pairwise test (number of buds per explant and leaves per bud).

In vitro organogenesis techniques have been widely used for propagating passionfruit cultivars and BAP is the most used cytokinin. In this study, treatment T7 (BAP 1.0 μ M + ANA 0.1 μ M) showed positive results in all variables (Table 1). This treatment promoted a callogenesis rate of 90.0%, a mean of 1.25 buds per explant, and 3.0 leaves per bud, i.e., the highest number of leaves in the developed buds.

Despite the high rates of callogenesis and mean number of buds, the use of TDZ (treatments T1 to T4) was ineffective for leaf development (Table 1). For instance, treatment T1 (TDZ 0.5 μ M + ANA 0.1 μ M) presented the highest callogenesis rate (100%) and an average of 3.2 buds per explant, but a mean of only 0.3 leaves per explant. On the other hand, the treatments T7 and T5, with BAP, induced a higher number of leaves (Table 1, Figure 1).

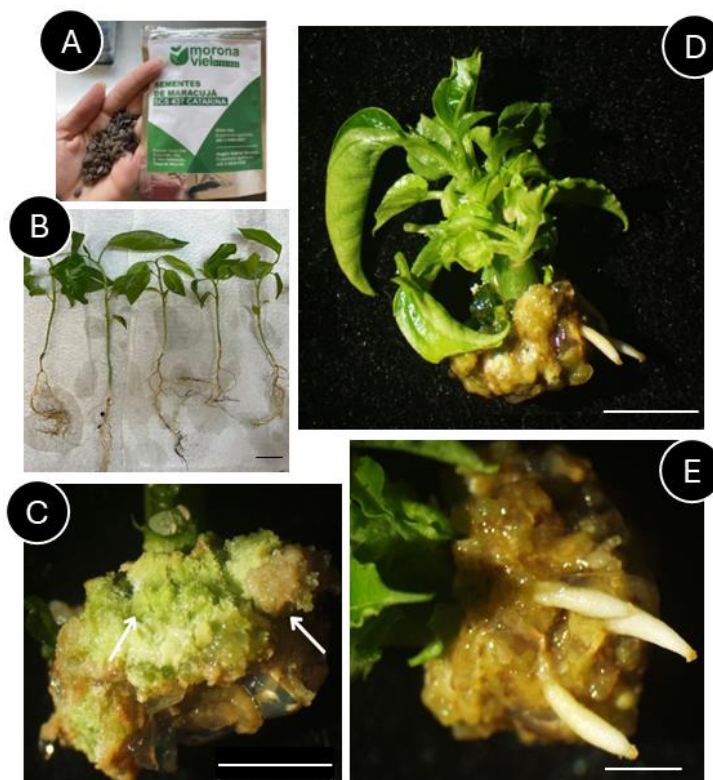


Figure 1. Callogenesis and indirect organogenesis induction in *Passiflora edulis* cv. SC 435 Catarina as a response to 0.1 μM NAA + 0.1 μM BAP (T7 treatment). **(A)** Commercial seeds used for *in vitro* germination. **(B)** *In vitro* germinated plantlets used as the source of explants. **(C)** Callogenesis with the formation of compact light brownish and greenish cellular masses (arrows). **(D)** Well-developed shoots and leaves. **(E)** Detail of spontaneous primary root development. Bars = 2.0 cm in B and 1.0 cm in C, D, and E.

Using only BAP (0.5 to 4.0 mg L^{-1}), Dornelas & Vieira (1994) induced direct shoot regeneration in *P. edulis* explants, while combining BAP with 1.0 mg L^{-1} NAA inhibited shooting. Similarly, Biasi et al. (2000) reported callogenesis and bud regeneration in *P. edulis* using BAP (1.0 to 4.0 mg L^{-1}) without auxin. However, the large number of buds per explant and low bud elongation were explained as an effect of the residual BAP (BIASI et al., 2000). *In vitro* callogenesis in *P. tuberosa* was induced with BAP, but a low bud development was observed (MONTEIRO et al., 2000). Asande et al. (2020) reported no significant differences in the number of shoots per explant between treatments using BAP (2.0 mg L^{-1}) or BAP (2.0 mg L^{-1}) + KIN (0.5 mg L^{-1}). On the other hand, Shekawat et al. (2015) observed a significantly higher number of shoots per explant using BAP (2.0 - 5.0 mg L^{-1}) in comparison with KIN (2.0 - 5.0 mg L^{-1}). These results highlight that BAP is a very effective PGR for shoot induction in passionfruit. At the same time, the simultaneous use of cytokinin and auxin seems to hamper *in vitro* development and fails to stimulate rooting. Difficulties in rooting stem nodal cuttings of passionfruit have been reported in the literature as an obstacle that needs to be overcome (KHAS et al., 2020, ASANDE et al., 2020).

Passionfruit is a climacteric fruit and produces high rates of ethylene. This gaseous phytohormone may reduce the morphogenic potential of *in vitro* cultured plants. It has been reported that ethylene and its precursors act as inhibitors of axillary bud development in passionfruit (REIS et al., 2003; DIAS et al., 2009). This might be the reason for the limited morphogenetic response of the explants in certain treatments. Experimental studies in *Arabidopsis* have shown that the presence of ethylene upregulates the activity of a key transcription factor which negatively regulates the cytokinin pathway. The regulators of the cytokinin pathway are influenced by auxin while an auxin signaling repressor

(SHORT HYPOCOTYL 2) links the auxin and cytokinin pathways. This means that auxin signaling regulates cytokinin signaling and vice versa (LIU et al., 2017).

The interaction between auxin, cytokinin, and ethylene can lead to changes in the balance of plant growth regulators *in vitro*. These changes can affect the response to a specific hormone stimulus, depending on which regulatory factor is dominant (LIU et al., 2017). These interactions can cause challenges in the *in vitro* propagation of passion fruit. Indeed, spontaneous root development (Figure 1) was observed in this study, in two treatments using BAP 0.1 μM in combination with NAA 0.5 μM or 0.1 μM (Table 1). Further studies using temporary immersion systems promoting gas interchange may aid passionfruit micropropagation, as reported for *Eugenia uniflora* (FRANCO et al., 2023).

Conclusions

Germinating certified seeds in an *in vitro* axenic environment and inducing indirect organogenesis in nodal segments from these *in vitro* developed seedlings is a feasible approach for the clonal propagation of passionfruit cultivar SCS 437 Catarina. Treatments using 0.1 μM of BAP combined with 0.1 μM or 0.5 μM of NAA showed promising results in inducing callogenesis, buds, and leaves. Although occurring in explants from two treatments, spontaneous rooting was too low, and a further step for buds rooting is required.

Acknowledgments

The authors thank Morona & Viel Viveiros for kindly providing the certified seeds of cultivar SCS437 Catarina and Prof. Tiago Olivoto (UFSC) for discussions on statistical analyses. VMS and TSO received research grants from CNPq/Brazil (Process 303673/2021-4 and 440301/2022-0) and DS received a PhD scholarship from UNIEDU/FUNDES/Brazil.

REFERÊNCIAS

- ASANDE, L.K.; OMBORI, O.; NYABOGA, E.N.; ODUOR, R.O. Efficient Shoot Organogenesis Using Leaf Disc and Nodal Explants of Passion Fruit (*Passiflora edulis* Sims) and Genetic Fidelity Assessment Using Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP) Markers. *International Journal of Agronomy*, v. 2020, ID 3205710, 2020.
- BIASI, L.A.; FALCO, M.C.; RODRIGUEZ, A.P.M.; MENDES, B.M.J. Organogenesis from internodal segments of yellow passion fruit. *Scientia Agrícola*, n. 57, p. 661-665, 2000.
- CUNHA, M.A.P.; BARBOSA, L.V.; JUNQUEIRA, N.T.V. Espécies de maracujazeiro. In: LIMA, A.A. (ed). Maracujá Produção: aspectos técnicos. Brasília: Embrapa informação tecnológica, 2002. p. 11-14.
- DIAS, L.L.C.; SANTA-CATARINA, C.; RIBEIRO, D.M.; BARROS, R.S.; FLOH, E.I.S.; OTONI, W.C. Ethylene and polyamine production patterns during *in vitro* shoot organogenesis of two passion fruit species as affected by polyamines and their inhibitor. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 99, p. 199-208, 2009.
- DORNELAS, M.C.; VIEIRA, M.L.C. Tissue culture studies on species of *Passiflora*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 36, p. 211-217, 1994.
- FRANCO, L.B.; HERMANN, B.R.; FRITSCH, Y.; STEFENON, V.M. A four steps protocol for *in vitro* propagation of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). *Genetic Resources and Crop Evolution*, v. 71, p. 1813-1823, 2024.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica*, v. 4, n. 1, art. 4: 9pp.

- KHAS, M.E.; ABBASIFAR, A.; VALIZADEHKAJI B. Optimization of in vitro Propagation of Purple Passion Fruit (*Passiflora edulis*), an Important Medicinal and Ornamental Plant. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, v. 7, n. 3, p. 305-314, 2020.
- LIU, J.; MOORE, S.; CHEN, C.; LINDSEY K. Crosstalk complexities between auxin, cytokinin, and ethylene in arabidopsis root development: from experiments to systems modeling, and back again. *Molecular Plant*, v. 10, n. 12, p. 1480-1496, 2017.
- MOHAMMADI, M.A.; WAI, M.H.; RIZWAN, H.M. et al. Advances in micropropagation, somatic embryogenesis, somatic hybridizations, genetic transformation and cryopreservation for *Passiflora* improvement. *Plant Methods* n. 19, e. 50, 2023.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* v. 15, p. 473-497, 1962.
- PETRY, H.; BRUNA, E.D.; MORETO, A.L.; BRANCHER, A.; SÔNEGO, M. “SCS437 Catarina”: Maracujá-azedo de alta qualidade para o mercado de mesa. *Agropecuária Catarinense*, v. 32, n. 2, p. 49-52, 2019.
- REIS, L.B.; PAIVA NETO, V.B.; TOLEDO PICOLI, E.A.; COSTA, M.G.C.; REGO, M.M.; CARVALHO, C.R.; FINGER, F.L.; OTONI, W.C. Axillary bud development of passionfruit as affected by ethylene precursor and inhibitors. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, v. 39, p. 618-622, 2003.
- SHEKHAWAT, M.S.; MANOKARI, M.; RAVINDRAN, C.P. An Improved micropropagation protocol by ex vitro rooting of *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg. through nodal segment culture. *Scientifica* v. 2015, ID 578676, 2015.
- SILVA, G.S.; BORGES, G.S.C.; CASTRO, C.D.P.C.; AIDAR, S.T.; MARQUES, A.T.B.; FREITAS, S.T.; RYBKA, A.C.P.; CARDARELLI, H.R. Physicochemical quality, bioactive compounds and in vitro antioxidant activity of a new variety of passion fruit cv. BRS Sertão Forte (*Passiflora cincinnata* Mast.) from Brazilian Semiarid region. *Scientia Horticulturae* v. 272, ID 1095, 2020.

Regeneração de *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel por organogênese *in vitro*

Lyon Martin Flescher Sojfer^{1*}, Edson Perez Guerra², Ingrid Lohani Degering Brand², Valdir Marcos Stefenon²

Resumo

Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes concentrações de BAP sob meio MS na organogênese *in vitro* de explantes foliares e de segmentos nodais, provenientes de plântulas germinadas *in vitro* de *P. trunciflora*. Foram testadas quatro concentrações de BAP com uma concentração fixa de ANA mais o tratamento controle (sem fitorreguladores). Após 60 dias foram avaliados o número de brotações totais, número de brotações completas, presença de calogênese inicial e a presença de calos formados. O experimento com folhas resultou em 100% de oxidação e nenhuma resposta organogênica. No experimento com segmentos nodais, o tratamento controle mostrou-se mais eficiente na produção de brotações totais e completas, com uma diminuição progressiva conforme o aumento da concentração de BAP. A concentração de 2,5 μ M estimulou a maior presença de calogênese inicial nos explantes. Não houve diferença entre os tratamentos quanto à presença de calos formados.

Palavras-chave: Jabuticabeira, micropropagação, calogênese.

Abstract

***Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel regeneration by *in vitro* organogenesis.** This study aimed to evaluate the effects of different concentrations of BAP under MS medium on the *in vitro* organogenesis of leaf explants and nodal segments from *in vitro* germinated seedlings of *P. trunciflora*. Four concentrations of BAP were tested with a fixed concentration of NAA plus the control treatment (without plant growth regulators). After 60 days, the number of total shoots, number of complete shoots, presence of initial callogenesis and presence of formed callus were evaluated. The experiment with leaves resulted in 100% oxidation and no organogenic response. In the experiment with nodal segments, the control treatment was more efficient in the production of total and complete shoots, with a progressive decrease as the BAP concentration increased. The concentration of 2.5 μ M stimulated the greatest presence of initial callogenesis in the explants. There was no difference between the treatments regarding the presence of formed callus.

Keywords: Jabuticabeira, micropropagation, callus formation.

Introdução

A jabuticabeira-de-cabinho [(*Plinia trunciflora* (O.Berg) Kausel)], é uma árvore frutífera nativa do Brasil, da família Myrtaceae, particularmente adaptada às condições da Mata Atlântica. A espécie possui um tipo específico de desenvolvimento dos frutos, a cauliflora, em que os frutos crescem diretamente no tronco e nas ramificações mais grossas, um fenômeno raro no reino vegetal. A planta pode atingir até 10 metros de altura e possui uma copa densa, com folhas pequenas, de cor verde-escura e brilhantes. Sua floração ocorre várias vezes ao ano, produzindo flores brancas hermafroditas que são atraentes para polinizadores, como abelhas e insetos (LORENZI, 2002; KOSERA NETO et al., 2018). Mesmo as flores sendo hermafroditas, elas dependem de polinizadores e da ação do vento para uma frutificação

¹ Curso de Graduação em Agronomia, Departamento de Fitotecnia, UFSC, Rod. Admar Gonzaga, 1346, CEP 88034-000, Florianópolis, SC, Brasil

² PPG Recursos Genéticos Vegetais, UFSC, Rod. Admar Gonzaga, 1346, CEP 88034-000, Florianópolis, SC, Brasil

* E-mail: lyon.flescher@hotmail.com

mais eficiente (KOSERA NETO et al., 2018). Produz frutos esféricos, com casca fina de coloração roxo-escuro e polpa suculenta, adocicada e rica em nutrientes, especialmente vitamina C, fibras e antioxidantes (BALERDI et al., 2006).

As sementes são grandes relativamente ao tamanho do fruto, sendo que há somente uma única semente ocupando grande parte do espaço interno (LORENZI, 2002). As sementes são recalcitrantes, ou seja, sua viabilidade é curta, o que significa que elas perdem a capacidade de germinar rapidamente após serem removidas do fruto (WAGNER JUNIOR et al., 2022). Ecologicamente, a jabuticabeira desempenha um papel importante em ambientes florestais, fornecendo alimento para várias espécies da fauna silvestre, que auxiliam na dispersão das sementes (RUEANGKET et al., 2021).

O cultivo da jabuticaba no Brasil, embora tradicionalmente associado a pequenos pomares e quintais, tem ganhado destaque devido à crescente demanda por seus frutos no mercado consumidor, tanto para consumo *in natura* quanto para a fabricação de produtos processados, como vinhos, licores e geleias (BALERDI et al., 2006). Os principais estados produtores incluem Minas Gerais, São Paulo, Goiás e Paraná, onde as condições climáticas são favoráveis ao desenvolvimento da espécie (SEMENSATO et al., 2020; GARCIA et al., 2019).

A propagação da jabuticabeira é realizada principalmente de duas maneiras: por sementes e por métodos vegetativos. A propagação por sementes, apesar de ser o método mais comum, apresenta uma série de limitações. Além do longo período necessário para que as mudas atinjam a fase de produção, as plantas obtidas dessa forma apresentam uma alta variabilidade genética. Isso pode ser vantajoso para a adaptação ecológica, mas prejudica a uniformidade de características desejáveis, como tamanho e qualidade dos frutos, no cultivo comercial (SILVA et al., 2019).

Por outro lado, métodos vegetativos, como a estaquia, enxertia e a alporquia, têm sido utilizados para garantir a transmissão das características desejadas da planta matriz para as novas mudas (SASSO & CITADIN, 2010; SASSO et al., 2010). A estaquia em jabuticabeiras é conhecida por ter uma taxa de sucesso relativamente baixa (SASSO & CITADIN, 2010), o que aumenta os custos de produção. A enxertia, em particular, tem demonstrado um bom potencial como método de propagação, contudo ainda há o gargalo da produção do porta-enxerto que é feito por via sexuada (SASSO et al., 2010). De qualquer forma, esses métodos não garantem uma boa sanidade das mudas, visto que patógenos, como fungos e vírus, provenientes da planta matriz são disseminados e perpetuados nas mudas. A aquisição de mudas sadias é um dos pilares para o estabelecimento de uma produção frutícola de alto padrão. Portanto, esses obstáculos limitam a aplicação eficiente dessas técnicas para a produção em grande escala de mudas de alta qualidade sanitária.

Nesse contexto, a micropropagação, especialmente através da organogênese, apresenta-se como uma solução promissora para superar as limitações dos métodos tradicionais de propagação (EMBRAPA, 2000). A organogênese *in vitro* é o processo pelo qual novos órgãos vegetativos, como brotos e raízes, são formados a partir de explantes de tecidos vegetais sob condições controladas em laboratório. Esses explantes podem ser obtidos de várias partes da planta, como segmentos nodais e folhas, permitindo a regeneração de novas plantas geneticamente idênticas à planta matriz (GUERRA & DAL VESCO, 2010).

Na cultura de tecidos, os fitorreguladores, desempenham um papel fundamental, regulando e modulando os processos de desenvolvimento vegetal, como o crescimento celular, diferenciação e regeneração de tecidos. Os principais grupos de fitorreguladores utilizados em micropropagação incluem auxinas, citocininas e giberelinas, cada um com efeitos específicos que podem ser combinados para direcionar o comportamento dos explantes cultivados em meio de cultura (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

As auxinas são essenciais para a indução de raízes em culturas de tecidos vegetais. Entre as auxinas mais comumente utilizadas estão o ácido naftalenoacético (ANA), o ácido indol-3-acético (AIA) e o ácido indol-3-butírico (AIB). Elas promovem a elongação celular, divisão celular nas regiões meristemáticas e formação de raízes adventícias (YOSHIDA, 2013). Em concentrações adequadas, as auxinas são decisivas para o enraizamento, mas podem inibir a brotação quando em excesso, devido à dominância apical (ALONI et al., 2006).

As citocininas são essenciais para a multiplicação de brotos, promovendo divisão e diferenciação celular. As mais utilizadas incluem a benzilaminopurina (BAP), kinetina e zeatina. O balanço entre auxinas e citocininas é o

principal regulador dos padrões de crescimento e morfogênese em culturas *in vitro* (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

Um arranjo com alta concentração de citocininas e baixa concentração de auxinas tende a estimular a proliferação de brotos, enquanto altas doses de auxinas com baixa concentração de citocininas favorecem o desenvolvimento radicular. O excesso de auxinas pode levar à calogênese, isto é, a formação de calos, em vez de brotos ou raízes organizadas, enquanto a ausência ou o desequilíbrio hormonal pode comprometer a regeneração (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

A utilização da organogênese direta para a propagação da jabuticaba oferece diversas vantagens. Primeiramente, possibilita a produção em larga escala de mudas homogêneas, com as mesmas características genéticas da planta de origem como por exemplo o abacaxi e a banana produzidos em biofábricas (AGBADJE et al., 2021; ESCALONA et al. 1999), assegurando a uniformidade do cultivo. Além disso, as plantas resultantes tendem a ser mais vigorosas e livres de doenças, já que o processo de micropropagação ocorre em ambiente estéril (GUERRA & DAL VESCO, 2010). A utilização de segmentos nodais de plântulas germinadas *in vitro* a partir de sementes da mesma matriz garante a manutenção das características genéticas desejáveis, com a vantagem adicional de acelerar a produção de mudas de alta qualidade (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

Este trabalho teve como objetivo investigar o processo de organogênese *in vitro* utilizando segmentos nodais e folhas de plântulas de *P. trunciflora* germinadas *in vitro*, todas provenientes de uma mesma planta matriz, em meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), suplementado com concentração padrão de ácido a-naftaleno acético (ANA) e doses crescentes de 6-benzilaminopurina (BAP). Ao explorar essas técnicas, espera-se contribuir para o desenvolvimento de estratégias mais eficientes de propagação da jabuticabeira, visando não apenas melhorar a qualidade e a produtividade das mudas, mas também acelerar a expansão comercial dessa frutífera nativa de grande relevância econômica e cultural para o Brasil.

Material e métodos

Material vegetal

O experimento foi realizado no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. Os explantes foram obtidos a partir de segmentos nodais de 1 cm e folhas, provenientes de plântulas de *P. cauliflora* germinadas *in vitro*, e transferidos para frascos de vidro, contendo 30 mL de meio de indução organogênica, composto por meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) em pH 5,8. Para diluir o efeito da variação genética nos resultados, os explantes de cada genótipo foram divididos homoganeamente entre os tratamentos.

Meio de cultura

A composição dos meios de cultura foi suplementada com 2 mL L⁻¹ de vitaminas de Morel (MOREL & VETMORE, 1951), 30 g L⁻¹ de sacarose, concentração fixa de ácido a-naftaleno acético (ANA) e concentrações progressivas de 6-benzilaminopurina (BAP) adaptado do protocolo utilizado por Franco et al (2024) para *Eugenia uniflora* L., 1 g L⁻¹ de Polivinilpirrolidona (PVP) e 6 g L⁻¹ de ágar para geleificação.

Delineamento experimental

Foram realizados dois experimentos, um para cada explante com um delineamento completamente casualizado (DCC), ambos compostos por cinco tratamentos correspondentes a quatro concentrações diferentes de BAP (1,5 µM, 2,0 µM, 2,5 µM e 3,0 µM) com uma concentração fixa de ANA (0,5 µM) e o controle (sem fitorreguladores), com nove repetições, sendo cada repetição representada por um explante. Os explantes foram condicionados em grupos de três,

totalizando três frascos por tratamento. O experimento foi mantido à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 16 horas e irradiância de $40\text{--}50 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, com uma transferência para um meio novo aos 30 dias e avaliado aos 60 dias.

Tabela 1. Tratamentos realizados para organogênese *in vitro* de segmentos nodais e folhas de *P. trunciflora*, sob meio de cultura MS e concentrações crescentes de BAP e fixa de ANA.

Tratamento	Auxina	Citocinina
	ANA (μM)	BAP (μM)
T1	0,0	0,0
T2	0,5	1,5
T3	0,5	2,0
T4	0,5	2,5
T5	0,5	3,0

Avaliação

Ao final do período de 60 dias, foram avaliados em cada explante: (1) o número de brotações, (2) o número de brotações com folha(s), (3) calogênese inicial e (4) calos formados. Considerou-se como “brotação” desde gema desenvolvida até folha completa em qualquer fase de desenvolvimento. Como “brotações com folhas”, foram consideradas somente as brotações que desenvolveram ao menos uma folha completamente expandida. Para calogênese inicial foi considerado o desenvolvimento de calos no interior do segmento nodal com ruptura do tecido da periderme e como calo formado, aqueles que produziram calos para fora do explante. A análise estatística dos dados foi realizada por meio da ANOVA bootstrapping (HAUKOOS & LEWIS, 2005) para verificar diferenças significativas entre os tratamentos e um teste de Games-Howell para separar as médias no software IBM SPSS (FIELD, 2018) ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Brotações

Considerando todas as brotações, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre T1 e T2, porém houve diferença entre T1 e os demais tratamentos (Tabela 2). Observou-se uma diminuição progressiva no número total de brotos à medida que a concentração de BAP aumentou.

Tabela 2. Análise de variância do número de brotações de *Plinia trunciflora* por segmento nodal (1 cm) da organogênese *in vitro* sob efeito de fitorreguladores 6-benzilaminopurina (BAP) e ácido a-naftaleno acético (ANA).

Auxina + Citocinina (μM)	Brotações totais (média)	Brotações completas (média)
0,0 ANA + 0,0 BAP	1,33 a	0,55 a
0,5 ANA + 1,5 BAP	0,77 ab	0,11 b
0,5 ANA + 2,0 BAP	0,33 b	0,00 b
0,5 ANA + 2,5 BAP	0,33 bc	0,00 b
0,5 ANA + 3,0 BAP	0,00 c	0,00 b

*ANOVA bootstrapping com correção de Welch. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Games-Howell ($P = 0,05$).

Quanto às brotações que desenvolveram folhas completas, observou-se uma diminuição progressiva no número total à medida que a concentração de BAP aumentava, com uma diferença estatisticamente significativa entre o tratamento sem fitorreguladores (T1) e todos os outros tratamentos. Esse resultado indica que o aumento da concentração de BAP reduziu significativamente a formação de folhas completas.

Esses resultados diferem do que geralmente é esperado. De acordo com a literatura, para concentrações crescentes de BAP junto a uma concentração fixa de ANA, ocorre um fomento na formação de brotos; como observado por Franco et al. (2023) com *Eugenia uniflora*, Biasi et al. (2000) com *Passiflora edulis* e Rodrigues et al. (2023) com *E. calycina*. Contudo, Oltramari et al. (2000) observaram resultados semelhantes na organogênese de segmentos nodais de *Acca sellowiana*, na qual os melhores resultados de número de brotos foram obtidos em meio WPM, sem a adição de fitorreguladores.

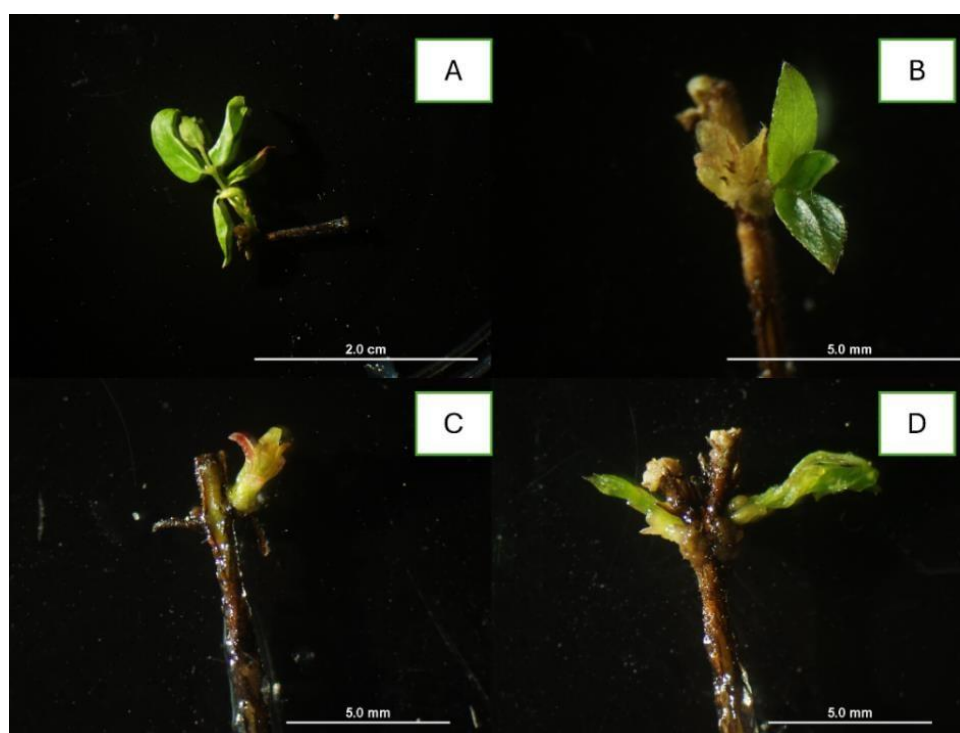


Figura 1. Exemplares de segmentos nodais de *Plinia trunciflora* in vitro de T1 (A), T2 (B), T3 (C) e T4 (D). T1 (0,0 ANA + 0,0 BAP μ M); T2 (0,5 ANA + 1,5 BAP μ M); T3 (0,5 ANA + 2,0 BAP μ M); T4 (0,5 ANA + 2,5 BAP μ M).

Devido à incerteza em relação às concentrações ideais de fitorreguladores para a regeneração de *P. trunciflora*, é possível que as quantidades de BAP e/ou ANA utilizadas tenham sido excessivas e/ou desbalanceadas, resultando em um efeito oposto ao desejado, inibindo o desenvolvimento de brotos. Conforme Grattapaglia & Machado (1998), concentrações de ANA ligeiramente superiores ao ideal podem inibir a brotação e favorecer a formação de calos. Considerando que todos os tratamentos, exceto o controle, utilizaram uma concentração fixa de ANA (0,5 μ M), é possível que esta quantidade seja elevada para *P. trunciflora*, tornando-a inadequada para a indução de brotações. Como houve uma diminuição progressiva da brotação proporcionalmente ao aumento da concentração de BAP, pode-se afirmar que as concentrações utilizadas desse fitorregulador foram suficientemente elevadas a ponto de inibir o desenvolvimento das gemas dos explantes.

Calogênese

Houve um aumento progressivo de calogênese inicial conforme o aumento na concentração de BAP e um decréscimo no tratamento com maior concentração do fitoregulador (T5). Esse início de calogênese pode ser observado na Figura 2 pela multiplicação das células internas do segmento nodal rompendo a periderme dos explantes. Como pode ser observado na Tabela 3, houve diferença estatística de T4 em relação a T1 e T5, enquanto T2 e T3 não apresentaram diferenças significativas para nenhum dos tratamentos. O mesmo padrão de frequência se repetiu na avaliação de calos desenvolvidos (Figura 3), contudo não houve diferença significativa entre nenhum dos tratamentos.

Tabela 3. Análise de variância de calogênese de *Plinia trunciflora* por planta da organogênese *in vitro* sobefeito de fitoreguladores 6-benzilaminopurina (BAP) e ácido a-naftaleno acético (ANA).

Auxina + Citocinina (μM)	Calogênese inicial (média)	Calos formados (média)
0,0 ANA + 0,0 BAP	0,22 b	0,00 a
0,5 ANA + 1,5 BAP	0,55 ab	0,22 a
0,5 ANA + 2,0 BAP	0,55 ab	0,11 a
0,5 ANA + 2,5 BAP	0,88 a	0,33 a
0,5 ANA + 3,0 BAP	0,22 b	0,22 a

*ANOVA bootstrapping com correção de Welch. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Games-Howell ($P = 0,05$).

Pinto et al. (2017) ao testarem concentrações semelhantes de ANA (0,54 μM) e BAP (0,0, 0,44, 1,11, 2,22, 4,44 e 8,88 μM – valores convertidos de mg L^{-1}) em explantes foliares de plântulas de *P. glomerata* observaram a formação de 67% e 92% de calogênese (2,22 e 4,44 μM de BAP, respectivamente) – concentrações semelhantes às utilizadas nesse trabalho. Malamug et al. (1994) também observaram a formação de calos induzida por ANA e BAP em *Colocasia esculenta* (taro), assim como Targa et al. (2021) verificaram 100% de calogênese em ápices celulares de *Dipteryx alata* sob 0,54 μM de ANA e 6,66 μM de BAP. Como já mencionado, concentrações de ANA levemente acima do adequado para a espécie podem estimular a calogênese ao invés da organogênese (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998). Diante disso, é possível que, além de inibir a brotação das gemas, as quantidades de BAP e ANA utilizadas tenham sido mais apropriadas para a indução de calos como observado pelos trabalhos citados acima.

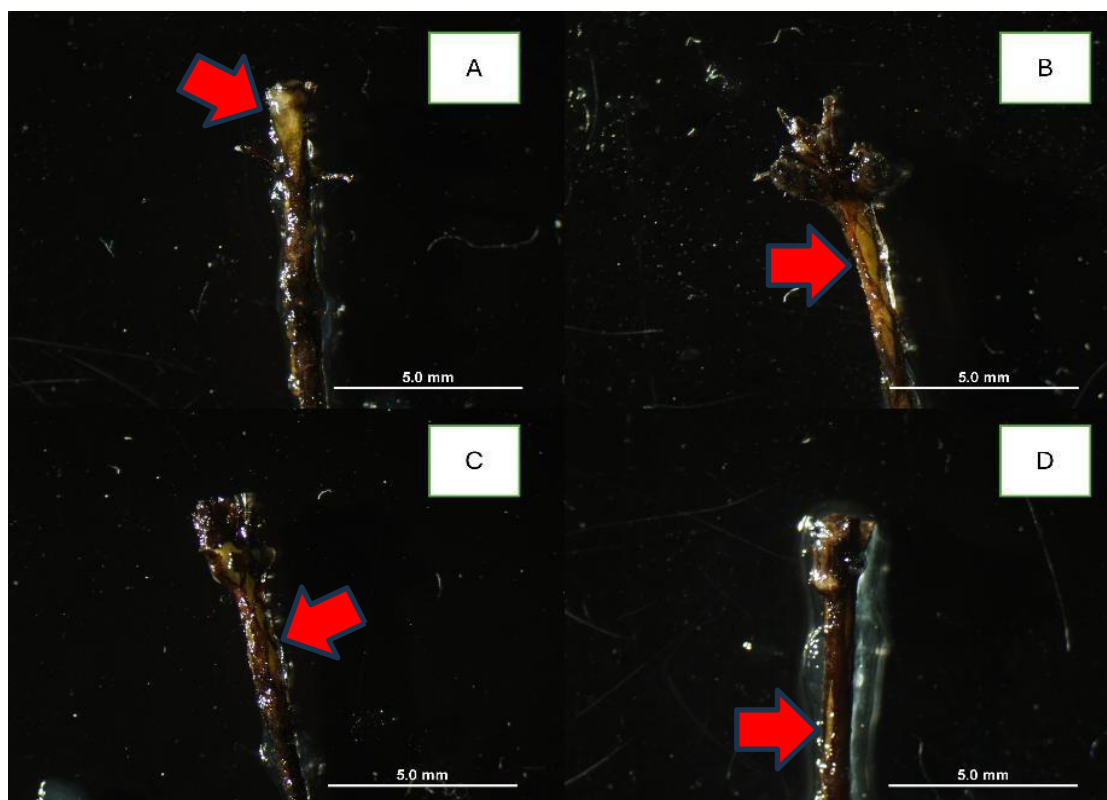


Figura 2. Calogênese inicial em de *Plinia trunciflora* cultivadas in vitro. T2 (0,5 ANA + 1,5BAP μ M) (A); T3 (0,5 ANA + 2,0 BAP μ M) (B); T4 (0,5 ANA + 2,5 BAP μ M) (C); T5 (0,5 ANA + 3,0 BAP μ M) (D).

A produção de calos também pode ser utilizada para a regeneração de plantas (indiretamente), contudo há uma alta probabilidade de gerar variação somaclonal, alterando o material genético - o que geralmente não é interessante para cultivos comerciais. Entretanto, a calogênese possui um grande potencial para a produção de compostos químicos de interesse farmacêutico, como alcaloides, compostos fenólicos, antioxidantes, flavonoides e outros compostos bioativos, que podem ser extraídos diretamente de culturas de calos como pode-se observar nos trabalhos de Stefenon et al. (2020) com calogênese de *E. uniflora*, Zanca et al. (2016) com *Duroia macrophylla* e Darigh et al. (2022) com *Cannabis indica*. Portanto, conforme a pesquisa à respeito evolua, a indução de calos em *P. cauliflora* pode se apresentar como um potencial fator de utilidade econômica.

Folhas

Todas as folhas oxidaram em todos os tratamentos. Sendo assim, é possível que a concentração do antioxidante PVP não tenha sido suficiente para evitar esse problema nas folhas, visto que esses são produtos do metabolismo secundário sintetizados no tecido foliar e, portanto, é provável que tenham uma concentração maior. Também há a possibilidade de que o PVP não seja o antioxidante adequado para evitar a oxidação de explantes foliares de *P. cauliflora*.

Por mais que a ANOVA bootstrapping tenha indicado diferenças estatísticas entre os tratamentos, é importante ressaltar que a não normalidade e dispersão dos dados impediram uma análise de ANOVA padrão. Tais problemas são devidos à pequena amostragem, aumentando o erro potencial causado individualmente por cada explante, e a alta diversidade genética entre os explantes, provenientes de sementes de uma mesma árvore matriz sendo no máximo “meio-irmãos”.

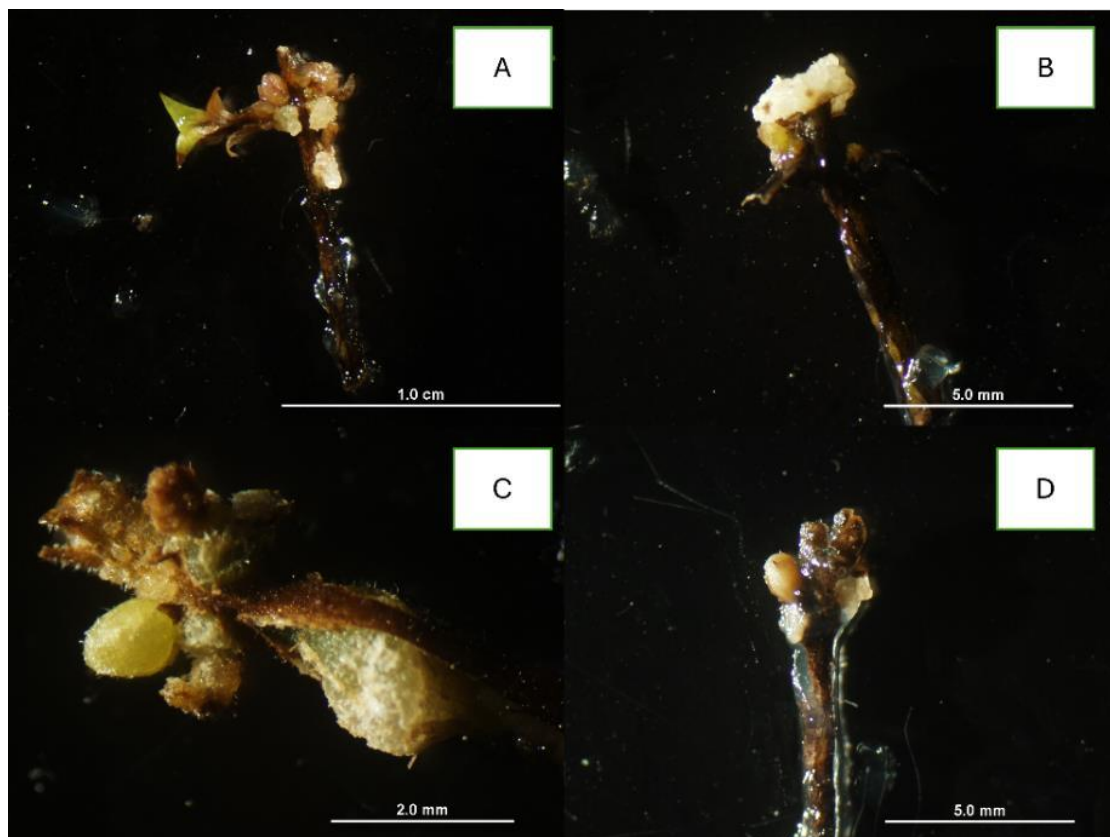


Figura 3. Calogênese em segmentos nodais de *Plinia cauliflora* cultivadas in vitro. (0,5 ANA + 1,5 BAP μ M) (A); T3 (0,5 ANA + 2,0 BAP μ M) (B); T4 (0,5 ANA + 2,5 BAP μ M) (C); T5(0,5 ANA + 3,0 BAP μ M) (D).

Conclusões

O tratamento controle sem a adição de fitorreguladores produziu a maior quantidade de brotações totais e completas.

A concentração de 2,5 μ M de BAP apresentou a maior frequência de calogênese inicial, enquanto o aumento na concentração de BAP inibiu a produção de brotos e aumentou a frequência de calogênese.

Um novo experimento com um tamanho amostral maior, testando diferentes meios (como o WPM), outras citocininas e diferentes concentrações de fitorreguladores, com a adição de um tratamento somente adicionado de auxina sem citocinina ajudaria a melhor elucidar os resultados.

Referências

- AGBADJE, E. T. A. E. et al. Mass production of bananas and plantains (*Musa* spp.) Plantlets through in vitro Tissue Culture Partway: A Review. *European Journal of Biology and Biotechnology*, v. 2, n. 4, p. 1–8, 2021.
- ALONI, R. et al. Role of Cytokinin and Auxin in Shaping Root Architecture: Regulating Vascular Differentiation, Lateral Root Initiation, Root Apical Dominance and Root Gravitropism. *Annals of Botany*, v. 97, n. 5, p. 883–893, 2006.

- BALERDI, C.F.; RAFIE, R.; CRANE, J. Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*, Berg.): a delicious fruit with an excellent market potential. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, v.119, p.66-68, 2006.
- DARIGH, F. et al. Simulated microgravity contributed to modification of callogenesis performance and secondary metabolite production in *Cannabis Indica*. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 186, p. 157–168, 2022.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. *Uso e aplicações biotecnológicas do cultivo in vitro de células, Tecidos e Órgãos de Plantas*. Brasília: Embrapa, 2000.
- ESCALONA, M. et al. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems. *Plant Cell Reports*, v. 18, p. 743–748, 1999.
- FIELD, A. *Discovering Statistics Using IBM SPSS Statistics*: North American Edition. 5th. ed. London: SAGE Publications Ltd, 2018.
- FRANCO, L.B. et al. A four steps protocol for in vitro propagation of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). *Genetic Resources Crop Evolution*, v. 71, p. 1813-1823, 2024.
- GARCIA, L. et al Effect of the addition of calcium chloride and different storage temperatures on the post-harvest of jaboticaba variety Pingo de Mel. *Food Science and Technology*, v. 39, p. 261-269, 2019.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa-SPI / Embrapa-CNPq, v. 1, 1998. p.183-260.
- GUERRA, M. P.; DAL VESCO, L. L. *Cultura de tecidos aplicada à fruticultura*. 2010.
- HAUKOOS, J.; LEWIS, R. Advanced statistics: bootstrapping confidence intervals for statistics with "difficult" distributions. *Academic emergency medicine: official journal of the Society for Academic Emergency Medicine*, v. 12. n. 4, p. 360-365, 2005.
- KOSERA NETO, C. et al. Reproductive and vegetative behavior of hybrid jaboticaba tree under flowering induction. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 48, n. 2, p. 118–125, 2018.
- LORENZI, H. *Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e cultivos de plantas arbóreas do Brasil*. 2ª Ed. São Paulo: Nova Odessa. 2002.
- MALAMUG, J. J. F.; YAZAWA, S.; ASAHIRA, T. Morphological variants induced from shoot tips of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) treated with gamma radiation. *Scientia Horticulturae*, v. 58, p.105-113, 1994.
- MALHEIROS, S. S. et al. Viabilidade de pólen e sistema reprodutivo de jabuticabeiras (*Plinia cauliflora*, *P. trunciflora* e *P. jaboticaba*). *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 37, n. 4, p. 1010-1017, 2015.
- MATTOS, J.L.R. *Fruteiras nativas do Brasil: jabuticabeiras*. Porto Alegre: Nobel, 1983. 92p.
- MOREL G.; WETMORE R.H. Fern callus tissue culture. *American Journal of Botany*, vol 1. p. 141-143, 1951.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, v. 15, p. 473-497, 1962.
- PINTO, F. et al. Germinação de sementes e calogênese in vitro de *Plinia glomerata* (O. Berg) Amshoff. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 19, n.2, p. 205- 211, 2017.
- RODRIGUES et al. In vitro multiplication of *Eugenia calycina* Cambess. (Myrtaceae) under the influence of BAP and NAA. *Research, Society and Development*, v. 12, n.10, 2023.

- RUEANGKET, A. et al. Fruit traits of tree species in lower montane rainforest at Doi Suthep–Pui, northern Thailand. *Journal of Tropical Ecology*, v. 37, n. 5, p. 240–251, 2021.
- SASSO, S.A.; CITADIN, I. Propagação de jabuticabeira por estaquia. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 32, p. 577-583, 2010
- SASSO, S.A.; CITADIN, I.; DANNER, M.A. Propagação de jabuticabeira por enxertia e alporquia. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 32, p. 571-576, 2010.
- SEMENSATO, L. R. et al. Fenologia, produtividade e qualidade de frutos de jabuticabeiras de diferentes idades das plantas. *Iheringia, Série Botânica*, v. 75, p. e2020013, 2020.
- SHIMELIS, D.; BANTTE, K.; FEYISSA, T. Effects of polyvinyl pyrrolidone and activated charcoal to control effect of phenolic oxidation on in vitro culture establishment stage of micropropagation of sugarcane. *Advanced Crop Science Tech*, v. 3, p. 52-57, 2015.
- SILVA J.A. et al. Advances in the propagation of Jabuticaba tree. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 41, p. 1-10, 2019.
- STEFENON, V. M. et al. In vitro callogenesis for the induction of somatic embryogenesis and antioxidant production in *Eugenia uniflora*. *Biotechnología Vegetal*. v. 20, n. 2, p. 135 – 146, 2020.
- TAKAO, L. K.; IMATOMI, M.; GUALTIERI, S. C. J. Antioxidant activity and phenolic content of leaf infusions of Myrtaceae species from Cerrado (Brazilian Savanna). *Brazilian Journal of Biology*, v. 75, n. 4, p. 948–952, 2015.
- TARGA, V. M. I. et al. Callogenesis and in vitro Regeneration of Baru (*Dipteryx alata* Vog.) Esprouts. *Journal of Agricultural Science*, v. 13, n. 4, p. 128, 2021.
- YOSHIDA S.; SAIGA, S.; WEIJERS, D. Auxin regulation of embryonic root formation. *Plant & Cell Physiology*, v. 54, n. 3, p. 325-332, 2013.
- ZANCA, S. S.; COSTA, R. C.; NUNEZ, C. V. In vitro callus induction of *Duroia macrophylla* Huber, chemical prospection and biotechnological potentialities of its extracts. *Journal of Botany Research*, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2016.

Transferibilidade de marcadores SSR desenvolvidos para *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel e *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel para espécies de Myrtaceae

Vanuza Zilli Perin^{1*}, Ana Kelly de Sousa Silva², Ingrid Lohani Degering Brand², Dalvan Carlos Beise², Valdir Marcos Stefenon²

Resumo

A família Myrtaceae destaca-se pela elevada riqueza de espécies e importância nas formações vegetais. Com isso, estudos genéticos são valiosos para subsidiar práticas de manejo, conservação e usos de recursos genéticos de Myrtaceae. Neste contexto, os marcadores moleculares SSR mostram-se vantajosos para esses estudos genéticos, devido ao alto nível de polimorfismo, multialelismo e elevada reprodutibilidade. Desse modo, este estudo objetivou verificar a transferibilidade de 10 marcadores SSR desenvolvidos para *P. trunciflora* e 10 para *P. cauliflora* em treze espécies de Myrtaceae. Os resultados demonstram que, dentre os 20 marcadores testados, 14 resultaram em amplificações em pelo menos uma espécie, sendo os marcadores desenvolvidos para *P. trunciflora* os que apresentaram maior percentual de transferibilidade para outras espécies da família Myrtaceae.

Palavras-Chave: Myrtales; microssatélites; genética vegetal.

Abstract

Transferability of SSR markers developed for *Plinia trunciflora* (O.Berg) Kausel and *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel to Myrtaceae species. The Myrtaceae family is notable for its high species richness and significance in plant formations. Consequently, genetic studies are essential to support management practices, conservation, and utilizing Myrtaceae genetic resources. In this context, SSR molecular markers are particularly advantageous for genetic studies due to their high polymorphism levels, multi-allelic nature, and high reproducibility. This study aimed to evaluate the transferability of 10 SSR markers developed for *P. trunciflora* and 10 for *P. cauliflora* across thirteen Myrtaceae species. The results revealed that, among the 20 markers tested, 14 produced successful amplifications in at least one species, with the markers developed for *P. trunciflora* showing the highest transferability rates to other Myrtaceae species.

Keywords: Myrtales; microsatellites; plant genetics.

Introdução

As espécies da família Myrtaceae possuem grande importância ecológica, econômica e cultural. Os frutos servem de alimento para muitos animais silvestres; favorecendo interações e serviços ecológicos importantes para a regeneração de ambientes naturais, sendo as Myrtaceae importantes para a reconstrução de áreas degradadas (GOMES et al., 2017; Myrtaceae in Flora e Funga do Brasil). Dentre as plantas cultivadas, destaca-se o gênero *Eucalyptus*, por ser produtor de madeira e a principal matéria prima utilizada na produção de papel e celulose no Brasil. Outras Myrtaceae são utilizadas na medicina popular por possuírem, principalmente, propriedades anti-inflamatórias, antibacterianas e antifúngicas; evidenciando o grande potencial farmacológico da família (DEXHEIMER et al., 2017). Além disso, os frutos de algumas espécies como jabuticabeiras, goiabeiras e pitangueiras são tradicionalmente utilizadas pela população na alimentação (GOMES et al., 2017).

¹ Curso de Graduação em Ciências Biológicas, UFSC, Campus Central, CEP 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil

² PPG Recursos Genéticos Vegetais, UFSC, Rod. Admar Gonzaga, 1346, CEP 88034-000, Florianópolis, SC, Brasil

* E-mail: vanuzazilli@gmail.com

O termo “jabuticabeira” é comumente utilizado para designar várias espécies de plantas que pertencem aos gêneros *Plinia* e *Myrciaria*. Entre as espécies conhecidas, destaca-se a *Plinia trunciflora*, popularmente conhecida como “jabuticaba de cabinho” e *Plinia cauliflora*, conhecida popularmente como “jaboticaba paulista” ou “jaboticaba Açú” (*Plinia* in Flora e Funga do Brasil).

Devido a importância das Myrtaceae nas formações vegetais brasileiras e significativo interesse econômico, torna-se valioso o conhecimento sobre a variabilidade genética das espécies para fins de manejo, conservação e usos de recursos genéticos. Nesse contexto, o uso de marcadores moleculares SSR caracteriza-se como uma importante ferramenta de biologia molecular para estudos genéticos. (FALEIRO, 2007).

Marcadores moleculares SSR são amplamente utilizados em diversas áreas da ciência por possuírem altas taxas de polimorfismos devido à grande variação no tipo e número de repetições entre as diferentes espécies, constituindo-se como regiões variáveis, co-dominantes, multialélicas e de grande conteúdo informativo (TURCHETTO et al., 2017; FALEIRO, 2007; FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998).

A necessidade de conhecimento prévio da sequência de DNA desejada é uma desvantagem desses marcadores espécie - específico. Entretanto, regiões flangeadoras conservadas em espécies relacionadas podem ser utilizadas. Assim, primers específicos para sequências adjacentes ao SSR desenvolvidos para uma determinada espécie, podem ser empregados em espécies relacionadas, de um mesmo gênero ou família, por meio da técnica de transferibilidade. Através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é possível amplificar um determinado locus sem o conhecimento do genoma do indivíduo de outras espécies, já que estes marcadores uma vez desenvolvidos, não requerem informações prévias de sequências de DNA, trazendo assim, otimização dos recursos genéticos já desenvolvidos dentro da família botânica (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998; FALEIRO, 2007). Desse modo, objetivou-se verificar a transferibilidade de 10 marcadores SSR desenvolvidos para *P. trunciflora* e 10 para *P. cauliflora* em treze espécies de Myrtaceae.

Material e Métodos

Isolamento de DNA

Para o estudo de transferibilidade foram coletadas amostras foliares de três indivíduos de 13 espécies pertencentes aos gêneros *Campomanesia*, *Eugenia*, *Psidium*, *Myrciaria*, *Eucalyptus* e *Syzygium* (Tabela 1). O DNA foi isolado seguindo o protocolo CTAB (DOYLE & DOYLE, 1990). Cerca de 50 mg de material foliar, em contato com nitrogênio líquido, foi macerado utilizando almofariz e pistilo. Em seguida, foi acrescentado 1 mL do tampão de lise (CTAB 2%; NaCl 1,4 M; EDTA 20 mM; Tris-HCl pH 8,0 100 mM; PVP-40 2%). A mistura foi colocada em tubos, os quais foram mantidos em banho-maria a 65°C por 40 min e homogeneizados por inversão a cada 10 min. Posteriormente, foram acrescentados 600 µL de CIA (clorofórmio-álcool isoamílico), e homogeneizados por inversão durante 3 min. Para a separação entre as fases orgânica e aquosa, os tubos foram centrifugados a 14.000 RPM por 5 min. Foram transferidos 500 µL do sobrenadante, e a extração orgânica com CIA foi repetida. O sobrenadante foi transferido para novos tubos, e adicionados 400 µL de álcool isopropílico a -20 °C, e mantido a essa temperatura por 1h30. Após esse período, os tubos foram centrifugados a 8.000 RPM por 5 min. Foram realizadas duas lavagens com 1 mL de etanol a 70% a -20 °C, mantido por 5 min, e centrifugado a 8.000 RPM por 5 min. foi realizada uma lavagem com 1 mL de etanol a 95% a -20 °C por 3 min. O precipitado foi deixado à temperatura ambiente para secagem por cerca de 30 min. O DNA foi eluído em 30 µL de tampão low-TE e armazenado a -20 °C até o uso. A quantidade e qualidade do DNA isolado foram avaliadas por meio do espectrofotômetro NanoDrop 1000® (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, EUA), medindo-se a concentração e as razões de absorbância 260/280nm e 260/230nm.

Tabela 1. Espécies selecionadas para os testes de transferibilidade

Nome científico	Nome popular
<i>Campomanesia guazumifolia</i>	Sete-capote
<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	Guabiroba
<i>Myrcianthes pungens</i>	Guabiju
<i>Eugenia pyriformis</i>	Uvaia
<i>Eugenia ramboi</i>	Batinga-branca
<i>Eugenia verticillata</i>	Guamirim
<i>Eugenia uniflora</i>	Pitanga
<i>Eugenia involucrata</i>	Cerejeira
<i>Psidium cattleyanum</i>	Araçá-amarelo
<i>Psidium guajava</i>	Goiaba
<i>Myrciaria cuspidata</i>	Camboim
<i>Syzygium malaccense</i>	Jambo-vermelho
<i>Eucalyptus sp.</i>	Eucalipto

Amplificação do DNA via PCR e verificação de resultados

As análises moleculares, foram realizadas a partir de 10 loci SSR desenvolvidos para *P. cauliflora* e 10 para *P. trunciflora*, obtidos a partir de estudos genômicos realizados no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina.

As amplificações via PCR foram realizadas em termociclador Veriti da Applied Biosystems®, com volume final de 15 µL, contendo: 1,5 µL de tampão 10x GoTaq®, 0,9 mM de dNTPs, 0,8 mM de MgCl₂, 1,2 µM de cada primer, 1 µL de BSA, 1,2 µM de M13, 0,2 U de Taq DNA polimerase, 3 ng de DNA e 5 µL de água ultra pura. Utilizou-se o programa de amplificação com as seguintes etapas: desnaturação inicial, anelamento dos iniciadores, anelamento com marcador M13 e extensão final, sendo a temperatura de anelamento dos iniciadores ajustada conforme a necessidade do primer.

Os produtos resultantes das PCRs foram verificados em gel de agarose 3%, utilizando corrente constante de 90V por 90 minutos e visualizada através da coloração com GelRed® em luz UV no transiluminador UVP MultiDoc-It® Imaging System, LM-20 Transilluminator. O tamanho dos fragmentos de DNA amplificados foram estimados por comparação com um marcador de peso molecular de 100 pb. A análise de transferibilidade foi realizada através da avaliação de ausência ou presença de banda (DNA concentrado visível). A confirmação de transferência foi considerada quando houve a ocorrência de no mínimo 2 espécimes com a presença de bandas visíveis. Foi usado como controle uma amostra padrão das espécies *Plinia cauliflora* e *Plinia trunciflora*. Utilizou-se um cálculo de percentual de transferibilidade para cada espécie onde: Transferibilidade (%) = (número de marcadores transferíveis/ número de marcadores testados) x 100. Também se calculou o percentual de transferibilidade para cada marcador onde: Transferibilidade (%) = (número de espécies em que houve amplificação/ número de espécies testadas) x 100.

Resultados e Discussão

Dentre os vinte loci testados, três deles não amplificaram na amostra controle e por isso, foram excluídos da análise. Dezesete loci tiveram alelos amplificados, apresentando diferentes padrões eletroforéticos, resultando em variadas taxas de transferibilidade (Tabela 3 e Tabela 4).

Os marcadores desenvolvidos para *P. trunciflora* apresentaram amplificação para todas as espécies analisadas. Dos dez marcadores, oito apresentaram fragmentos amplificados para, pelo menos, duas das espécies selecionadas, sendo o marcador TRU7 amplificado em 15,3% das espécies, TRU10 em 23%, TRU2 e TRU3 em 30,7%, TRU1 e TRU5 em 38,4%. Os marcadores com maior percentual de amplificação foram TRU4 e TRU6 em que amplificaram em 61,5% e 69,2% das espécies, respectivamente (Tabela 3).

Dentre os marcadores desenvolvidos para *P. cauliflora*, seis tiveram transferibilidade confirmada para, pelo menos, uma espécie. Os marcadores CAU5 e CAU14 amplificaram em apenas uma das espécies. CAU3 amplificou em 23%, CAU6 e CAU12 em 38,4% e CAU9 amplificou em 53,8%. CAU1, CAU2 e CAU11 não resultaram em fragmentos na amostra padrão, mas amplificaram em diferentes espécies (Tabela 4).

Os marcadores TRU8, TRU14 e CAU7 não apresentaram amplificação em nenhuma das espécies selecionadas. Callen et al. (1993), ao estudarem microssatélites em humanos, sugeriram que mutações na região de ligação dos primers comprometem seu anelamento, impedindo a amplificação do locus alvo.

Os marcadores de *P. trunciflora* e *P. cauliflora* apresentaram diversificadas taxas de transferibilidade. O potencial de transferência de marcadores SSR depende do grau de parentesco genético das espécies analisadas. Espécies mais aparentadas apresentam maior conservação das regiões que flanqueiam o SSR, onde estão os sítios de ligação desses primers (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998).

Contudo, estudos apresentam dados diferentes. Siqueira et al. (2014) ao avaliarem a transferibilidade de marcadores desenvolvidos em *Eucalyptus sp.* para *Eugenia klotzschiana* obtiveram amplificações de apenas 9,2 % dos marcadores. Rai et al. (2013) investigaram a transferência de marcadores desenvolvido em *Psidium guajava* para outras espécies, identificaram elevadas taxas de transferibilidade, com 78,2% em *Eucalyptus citriodora*, 60,8 % em *Eucalyptus camaldulensis* e 73,9 % em *Callistemon lanceolatus* e *Syzygium aromaticu*.

Os resultados obtidos no presente estudo em *Eugenia involucrata* e *Myrciaria cuspidata*, mostram ausência de transferibilidade dos marcadores desenvolvidos para *P. cauliflora* e *P. trunciflora*. As espécies *C. xanthocarpa* e *P. guajava*, não apresentaram bandas de amplificação indicando ausência de transferibilidade dos marcadores de *Plinia cauliflora*, divergindo da maioria da literatura encontrada. Cenário semelhante a esse foi relatado por Billotte et al. (2004), em que marcadores desenvolvidos para a espécie *Phoenix dactylifera* não demonstraram amplificações em espécies do gênero *Astrocaryum*, embora ambos sejam da família *Arecaceae*.

Os marcadores CAU3, CAU12 e TRU7 apresentaram bandas inespecíficas de tamanhos variados, evidenciando a necessidade de alterações nas condições de realização da PCR. Segundo Lorenz (2012) os ajustes mais comuns para a otimização de um experimento de PCR consistem em alterar a concentração de Mg^{2+} e corrigir as temperaturas de anelamento de modo que a baixa concentração de Mg^{2+} aumenta a especificidade da DNA polimerase e o aumento da temperatura de anelamento eleva a especificidade dos fragmentos amplificados.

Conclusão

Os marcadores desenvolvidos para *P. trunciflora* demonstraram altas taxas de transferibilidade nas espécies avaliadas. Isso evidencia que esses marcadores podem ser aplicados em futuros programas de conservação e melhoramento genético de diferentes espécies da família *Myrtaceae* que ainda são pouco exploradas. Dessa forma, essas informações ampliam o conhecimento genético sobre as *Myrtaceae*, fornecendo uma base de dados mais robusta para pesquisas futuras.

Tabela 3. Resultados dos testes de transferibilidade loci de *P. trunciflora*

	C. <i>guazumifolia</i>	C. <i>xanthocarpa</i>	M. <i>pungens</i>	E. <i>pyriformis</i>	M. <i>ramboi</i>	E. <i>verticillata</i>	E. <i>uniflora</i>	E. <i>involucrata</i>	P. <i>cattleyanum</i>	P. <i>guajava</i>	M. <i>cuspidata</i>	S. <i>malaccense</i>	<i>Eucalyptus</i> sp.	T(%)
TRU1	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	38,4
TRU2	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	30,7
TRU3	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	30,7
TRU4	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	61,5
TRU5	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	38,4
TRU6	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	69,2
TRU7	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15,3
TRU8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
TRU1 0	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	23
TRU1 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
T (%)	40	20	50	80	20	40	20	0	50	30	0	40	10	

T - corresponde a taxa de transferibilidade. O sinal (+) corresponde a presença de amplificação observada. O sinal (-) corresponde a ausência de amplificação.

Tabela 4. Resultados dos testes de transferibilidade dos loci de *P. cauliflora*

	<i>C.</i> <i>guazumifolia</i>	<i>C.</i> <i>xanthocarpa</i>	<i>M.</i> <i>pungens</i>	<i>E.</i> <i>pyriformis</i>	<i>E.</i> <i>ramboi</i>	<i>E.</i> <i>verticillata</i>	<i>E.</i> <i>uniflora</i>	<i>E.</i> <i>involucrata</i>	<i>P.</i> <i>cattleyanum</i>	<i>P.</i> <i>guajava</i>	<i>M.</i> <i>cuspidata</i>	<i>S.</i> <i>malaccense</i>	<i>Eucalyptus</i> sp.	T(%)
CAU3	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	23
CAU5	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,6
CAU6	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	38,4
CAU7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
CAU9	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	58,8
CAU12	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	38,4
CAU14	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,6
T (%)	7,6	0	57	42,8	28,5	42,8	28,5	0	28,5	0	0	42,8	28,6	

T corresponde a taxa de transferibilidade.; O sinal (+) corresponde a presença de amplificação observada.; O sinal (-) corresponde a ausência de amplificação.

Referências

- BILLOTTE, N. et al. Nuclear microsatellite markers for the date palm (*Phoenix dactylifera* L.): characterization and utility across the genus *Phoenix* and in other palm genera. *Molecular Ecology Notes*, v. 4, n. 2, p. 256-258, 2004.
- CALLEN, D. F. et al. Incidence and origin of "null" alleles in the (AC)_n microsatellite markers. *American Journal of Human Genetics*, v. 52, p. 922-927, 1993.
- DEXHEIMER, G. M. et al. Atividade biológica de plantas da família Myrtaceae: revisão sistemática de artigos entre 1989 e 2015. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, v. 22, n. 2, 2017.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, p. 13-15, 1990.
- FALEIRO, F. G. *Marcadores genético-moleculares: aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos*. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 99 p.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. 3. ed. Brasília: Embrapa Cenargen, 1998. 224 p.
- GOMES, J. P. et al. Myrtaceae na Bacia do Rio Caveiras: características ecológicas e usos não madeireiros. *Floresta e Ambiente*, v. 24, p. 1-10, 2017.
- LORENZ, T. C. Polymerase Chain Reaction: basic protocol plus troubleshooting and optimization strategies. *Journal of Visualized Experiments*, v. 63, e. 3998, 2012.
- Myrtaceae in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB171>>. Acesso em: 6 set. 2024.
- Plinia* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB10824>>. Acesso em: 23 out. 2024.
- RAI, M. K. et al. Transferability of simple sequence repeat (SSR) markers developed in guava (*Psidium guajava* L.) to four Myrtaceae species. *Molecular Biology Reports*, v. 40, n. 8, p. 5067-5071, 2013.
- SIQUEIRA, M. N. Transferibilidade e variabilidade genética no microsatélites gênicos em *Eugenia klotzschiana* Berg (Myrtaceae). 2014. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.
- TURCHETTO, A. C. et al. (org.). *Marcadores Moleculares na Era Genômica: Metodologias e Aplicações*. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2017. 181 p.