

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

ANTIBIÓTICOS NA DESINFESTAÇÃO DE SEGMENTOS CAULINARES DE *Lecythis pisonis* CAMBESS

Marcia Braga Pereira¹, Taísa de Fátima Rodrigues de Almeida¹, Joana Silva Costa², Tamiris de Mello², Paula Aparecida Muniz de Lima¹, Rodrigo Sobreira Alexandre², José Carlos Lopes¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Agronomia, Alto Universitário, s/nº, Guararema, 29500-000, Alegre - ES, Brasil, marciabp25@hotmail.com, aalmeida049@gmail.com, aluap-lima@hotmail.com, jclufes@gmail.com

²Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias/Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, Avenida Governador Lindemberg, 316, Centro, 29550-000, Jerônimo Monteiro - ES, Brasil, joanasilvacosta9@hotmail.com, tamyrisdemello@gmail.com, rodrigossobreiraalexandre@gmail.com

Resumo

A espécie *Lecythis pisonis* Cambess, conhecida popularmente como sapucaia, apresenta grande potencial para uso ornamental, produção de castanhas e madeira. Porém, apresenta baixa produção via seminal e problemas na germinação das sementes, dificultando a propagação da espécie. Dessa forma, a propagação vegetativa *in vitro* apresenta-se como uma técnica, visto que ela possibilita plantas livres de patógenos. Portanto, objetivou-se com esse estudo determinar o melhor tempo de exposição dos segmentos caulinares de *L. pisonis* a diferentes agentes desinfestantes. No desenvolvimento do protocolo de desinfestação foram testadas quatro agentes desinfestantes: rifampicina, azitromicina, cloridrato de ciprofloxacino e amoxicilina, em dois intervalos de tempos: quatro e 24 horas. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com oito tratamentos e quatro repetições de cinco segmentos caulinares cada. Para desinfestação do material vegetativo, os melhores resultados foram a imersão dos explantes em amoxicilina ou rifampicina por quatro horas, ou cloridrato de ciprofloxacino por 24 horas. A desinfestação de sapucaia é possível com as técnicas utilizadas nesse trabalho.

Palavras-chave: sapucaia, cultivo *in vitro*, micropropagação.

Área do Conhecimento: Engenharia Agrônômica- Agronomia

Introdução

A família Lecythidaceae compreende cerca de 23 gêneros e pouco mais de 350 espécies, com maior diversidade na região neotropical. O gênero *Lecythis* Loefl. é constituído por 26 espécies, sendo a *Lecythis pisonis* Cambess a mais conhecida. É popularmente conhecida como sapucaia, ou cumbuca de macaco. Originária da Amazônia, com ocorrência na Floresta Atlântica, desde os estados do Ceará até o Rio de Janeiro, sendo frequente no Sul da Bahia e no Norte do Espírito Santo (SANTANA, 2023).

É uma árvore de grande porte, podendo alcançar de 20-30 m de altura; as folhas são coriáceas, glabras e na época de floração adquirem coloração rosa avermelhada; as flores são violáceas e o fruto possui formato esférico e pode possuir de 10-30 sementes (castanhas). A espécie apresenta grande potencial para uso ornamental, produção de frutos e de madeira, sendo indicada para reflorestamento por ser uma espécie clímax e por atrair a fauna local, além disso possuem grande potencial de comercialização para alimentação humana, por possuir alto valor nutricional (SANTOS et al, 2019).

Há um decréscimo da espécie natural nas florestas, isso se deve, em parte, ao tempo que essas árvores demoram para atingir a fase adulta e iniciar a frutificação e, conseqüentemente, a produção das sementes. Sua propagação é realizada via seminal, contudo, há escassez de sementes para

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

produção de mudas, a fim de atender à demanda. Por apresentar baixa produção, dificuldade na obtenção de sementes, crescimento lento e altas taxas de mortalidade das mudas por meio das sementes, a propagação vegetativa *in vitro* apresenta-se como uma técnica, visto que possibilita a produção de material vegetal em condições assépticas, para espécies com dificuldades de germinação. Além de ser uma alternativa para produção comercial de mudas (MELLO, 2018).

Objetivou-se com esse trabalho estabelecer um protocolo de desinfestação de segmentos caulinares de sapucaia afim de facilitar a sua propagação.

Metodologia

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, e no Viveiro Experimental localizado na área experimental do Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, no município de Jerônimo Monteiro, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES). As mudas utilizadas foram provenientes da germinação de sementes da espécie *Lecythis pisonis* coletadas de matrizes existentes na região Norte do Espírito Santo, no município de Linhares e conduzidas por dois anos no Viveiro Experimental.

Foi feito a quebra apical das mudas na altura de 15 cm acima do coleto, visando a quebra da dominância apical e estímulo da ocorrência de brotações laterais sem cessar o processo de fotossíntese. Obtendo-se as minicepas do minijardim, que permaneceram na casa de vegetação durante toda a experimentação, fornecendo os explantes para o estabelecimento *in vitro*.

O material vegetativo coletado no minijardim seminal foi conduzido em sacolas plásticas fechadas para o Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, onde foram retiradas as folhas e lavados os segmentos caulinares com água e detergente neutro.

Na câmara de fluxo laminar, o processo de desinfestação consistiu na imersão dos explantes por um minuto em álcool 70%, lavagem com água destilada e autoclavada, hipoclorito de sódio 2,5% (Qboa®) por 20 minutos, tríplex lavagem em água destilada e autoclavada, e posteriormente foi aplicado as soluções as quais consistiram os tratamentos: amoxicilina (3 g L⁻¹); azitromicina (3 g L⁻¹); rifampicina (600 mg L⁻¹) e cloridrato de ciprofloxacino (3 g L⁻¹); todos em dois tempos de imersão diferentes (4 ou 24h); seguido de tríplex lavagem em água destilada e autoclavada, após cada solução.

Após desinfestação, foi excisado a extremidade inferior dos explantes, a fim de retirar o tecido necrosado, e inoculados em tubos de ensaio (25 x 150 mm) contendo 5 mL do meio de cultura contendo meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) (Sigma-Aldrich®), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose (Dinâmica®), 0,1 g L⁻¹ de mioinositol (Sigma-Aldrich®), 1 g L⁻¹ de polivinilpirrolidona (Synth®), 5,5 g L⁻¹ de ágar (Kasvi®), e pH ajustado a 5,7 ± 0,1, e autoclavados. Os tubos de ensaio foram mantidos em sala de crescimento sob irradiância de 60 µmol m⁻² s⁻¹, fotoperíodo de 8/16 horas e temperatura de 27 ± 2 °C. Foram contabilizadas as percentagens de contaminação e oxidação após 21 dias. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizados, com oito tratamentos e quatro repetições de cinco explantes cada.

Resultados

Os antibióticos que proporcionaram as menores percentagens de contaminação por bactéria foram aqueles em que os segmentos caulinares foram desinfestados com amoxicilina, rifampicina e cloridrato de ciprofloxacino durante 4 e 24 horas de imersão, e com as menores percentagens de oxidação, respectivamente. Os produtos com maiores percentagens de contaminação foi azitromicina 4 horas e amoxicilina 24 horas, como observado na Tabela 1.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Tabela 1 - Disposição dos tratamentos com diferentes antibióticos na desinfestação de segmentos caulinares de *L. pisonis*

Antibióticos	Tempo de exposição (%)	Contaminação (%)	Oxidação (%)
Amoxicilina	4	0	0
	24	55	22,22
Azitromicina	4	90	0
	24	35	0
Rifampicina	4	0	0
	24	0	10
Cloridrato de ciprofloxacino	4	10	0
	24	0	10

Fonte: o autor.

Discussão

A oxidação dos explantes foi avaliada diretamente por meio do escurecimento do meio de cultura ou do tecido da planta como proposto por Oliveira et al. (2021). As oxidações começaram nas extremidades superiores e inferiores, ficando limitadas a elas, enquanto em outros explantes elas difundiram-se para o restante do explante, oxidando-os quase que completamente. O escurecimento encontrado nos meios de cultura é devido à liberação e oxidação de compostos fenólicos que inibem o crescimento do explante (MALDONADO, 2014). Alguns materiais vegetais, geralmente os que possuem características lenhosas, são mais susceptíveis aos danos causados pela oxidação. Vieira et al. (2021), caracterizaram as substâncias encontradas em meio de cultura para algumas espécies lenhosas e as identificaram como sendo fenóis, flavonóides e taninos, responsáveis pelas oxidações.

O antibiótico amoxicilina 4 horas, pertencente a classe dos β -lactâmicos, neste trabalho apresentou melhor resultado. Em contrapartida, no trabalho de Cavalcanti (2013) para controle de microrganismos contaminantes no estabelecimento *in vitro* de explantes de *Heliconia psittacorum*, onde testou 4 g L⁻¹ e 8 g L⁻¹ de amoxicilina, apresentou taxas de contaminação bacteriana de 23% e 30%, respectivamente, não sendo suficiente para o combate desses microrganismos.

No trabalho de Donato et al. (2005), desenvolvido com objetivo de eliminar bactérias endofíticas fixadoras de N₂, presentes em plantas de cana-de-açúcar cultivadas *in vitro*, por meio do uso de dois antibióticos – amoxicilina e cefatoxima sódica – acrescidos ao meio MS, confirmaram que a amoxicilina foi o antibiótico mais eficiente na inibição do crescimento das bactérias *Acetobacter diazotrophicus* e *Herbaspirillum spp.* O uso dos antibióticos no meio de cultura foi eficiente para eliminar *A. diazotrophicus*, mas não para *Herbaspirillum spp.*, onde funcionaram apenas como bacteriostáticos.

No presente trabalho não houve manifestação de contaminação por fungos, provavelmente devido à eficiência da assepsia realizada nos explantes antes do estabelecimento destes ao meio de cultura.

De acordo com a literatura, o uso de antibióticos apresenta problemas, uma vez que eles podem proporcionar níveis consideráveis de toxidez ao tecido vegetal (ROSSI, 2013). Para *Lecythis pisonis* em condições *in vitro*, é possível obter bons resultados de propagação usando os desinfestantes amoxicilina, rifampicina e cloridrato de ciprofloxacino.

Conclusão

A desinfestação dos segmentos caulinares de *L. pisonis* é eficaz com o uso de amoxicilina (3 g L⁻¹) e rifampicina (600 mg L⁻¹) por 4 horas, e cloridrato de ciprofloxacino (3 g L⁻¹) por 24 horas.

Referências

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

CAVALCANTI, L. L. M. **Controle de microorganismos contaminantes na introdução in vitro de explantes de *Heliconia psittacorum* cv. Red Opal**. Rio Largo: UFAL/ CECA, 2013 (27 p.). Trabalho de conclusão de curso, 2013.

DONATO, V. M. T. S.; ANDRADE, A. G.; TAKAKI, G. M. C.; MARIANO, R. L. R.; MACIEL, G. A. Plantas de cana-de-açúcar cultivadas *in vitro* com antibióticos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 1, p. 134-141, 2005.

MALDONADO, A. C. D. **Propagação in vitro da Gabirobeira (*Campomanesia ssp.*)**. 2014. 114 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.

MELLO, T. **Estabelecimento e multiplicação in vitro de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess)**. Dissertação de Mestrado. Jerônimo Monteiro, 2018.

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

SANT'ANA, B. T. Produtividade de minicepas e enraizamento de miniestacas de sapucaia (*Lecythis lanceolata*). **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 43, p. 1-6, 2023.

OLIVEIRA, N. P.; RIBEIRO, S. A. F.; SOUZA, M. M. Controle de contaminação e oxidação no cultivo *in vitro* de oliveira (*Olea europaea* L.) cv. "Koroneiki". **Research, society and development**, v. 10, n. 5, p. e30710514929-e30710514929, 2021.

SANTOS, O. V.; CARVALHO Jr, R. N.; COSTA, C. E. F.; SILVA, L. S. C. Chemical, chromatographic-functional, thermogravimetric-differential and spectroscopic parameters of the sapucaia oil obtained by different extraction methods. **Industrial Crops and Products**, v. 132, p. 487-496, 2019.

ROSSI, L. M. B. In: COSTA, J. R.; MORAIS, R. R. & CAMPOS, L. S. **Cultivo e manejo do mogno (*Swietenia macrophylla* King)**. Manaus: Embrapa Ocidental, 2013. 36 p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/117338/1/Doc-114-A5.pdf>. Acesso em: 31 de julho de 2023.

VIEIRA, M. R. S.; SILVESTRE, E. G.; LIMA, A. A.; LOPES, A. B.; SILVESTRE, F. G. Métodos de assepsia na multiplicação *in vitro* da bananeira 'Pacovan' (*Musa* spp.). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 16, p. 29, 2021.

Agradecimentos

Chamada CNPq Nº 09/2022 - Bolsas de Produtividade em Pesquisa (Sementes zigóticas e sintéticas de castanheiras-do-Brasil na conservação sexuada e assexuada deste patrimônio genético inexplorado); EDITAL FAPES Nº 21/2022 APOIO À INFRAESTRUTURA DE PESQUISA, DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO EM LABORATÓRIOS INTERDISCIPLINARES (Laboratório Interdisciplinar de Ciências do Espírito Santo (LICES)) e EDITAL FAPES Nº 03/2021 – UNIVERSAL (Conservação/criopreservação ex situ de embriões zigóticos e somáticos das castanheiras *Lecythis pisonis* e *Lecythis lanceolata* endêmicas do hotspot de biodiversidade ameaçada - Floresta Atlântica).