

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

CLORIDRATO DE CIPROFLOXACINO NA DESINFESTAÇÃO DE EXPLANTES DE SAPUCAIA

**Tamyris de Mello¹, Simone Wellita Simão de Carvalho², João Pedro Vieira
Fraga de Assis², Eduardo Santos Cade², Mariana Ribeiro de Almeida², José
Carlos Lopes², Rodrigo Sobreira Alexandre¹**

¹Universidade Federal do Espírito Santo/Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, Avenida Governador Lindemberg, 316, 29550-000, Jerônimo Monteiro - ES, Brasil, tamyrisdemello@gmail.com, joaopedrov80@gmail.com, rodrigossobreiraalexandre@gmail.com

²Universidade Federal do Espírito Santo - Departamento de Agronomia, Alto Universitário, s/n, Guararema, 29500-000, Alegre - ES, Brasil, simonewellita@gmail.com, eduardo.cade@edu.ufes.br, mariribeiro11@hotmail.com, jclufes@gmail.com

Resumo

A espécie *Lecythis pisonis* Cambess, conhecida como sapucaia, é uma árvore nativa do Brasil, que ocorre na Floresta Amazônica e Atlântica, com diversas utilidades, como produtora de castanha, madeira e ornamental, o que tem despertado o interesse de pesquisadores em explorar essa espécie. Porém, ela ocorre com baixa frequência nas florestas, devido a fatores fisiológicos. Para suprir essa demanda, a propagação vegetativa *in vitro* surge como uma alternativa. O presente trabalho teve como objetivo analisar diferentes tempos de exposição ao cloridrato de ciprofloxacino (0,5; 1; 2; 4 e 8 horas) no processo de desinfestação de explantes de sapucaia. O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (CCAUE-UFES), no município de Jerônimo Monteiro - ES. O material vegetativo utilizado foi coletado em plantas enxertadas cultivadas em casa de vegetação, os quais foram levados para desinfestação e estabelecimento em tubos de ensaio contendo meio de cultura. Foram avaliados cinco tratamentos, em delineamento inteiramente casualizado. O cloridrato de ciprofloxacino por oito horas proporcionou menor contaminação bacteriana nos explantes de sapucaia.

Palavras-chave: cultura de tecidos vegetais. *Lecythis pisonis*. propagação vegetativa.

Área do Conhecimento: Engenharia Agrônoma – Engenharia Florestal

Introdução

A espécie *Lecythis pisonis* Cambess, conhecida como sapucaia, é uma árvore nativa do Brasil, que ocorre principalmente na Floresta Amazônica e Floresta Atlântica (SMITH, 2023). Apresenta boa aceitação no mercado, por ser uma planta com diversas utilidades, principalmente pelo consumo de suas castanhas, o que tem despertado o interesse de pesquisadores em explorar a espécie (CARVALHO *et al.*, 2012; BARRETO *et al.*, 2020). Essa espécie ocorre com baixa frequência nas florestas, devido a fatores fisiológicos, como o tempo que demora para frutificar e a reprodução por sementes (RIOS; PASTORE, 2011).

Para suprir essa demanda, a propagação vegetativa *in vitro* surge como uma alternativa. Com a técnica da cultura de tecidos vegetais é possível utilizar explantes, que podem ser órgãos ou segmentos de tecidos vegetais, tais como caule, folhas, raiz ou ainda qualquer outro tecido que responda as condições de indução disponíveis pelo meio de cultura, e que seja capaz de regenerar uma planta (ANDRADE, 2002).

Contudo, a contaminação dos explantes é um dos grandes entraves na cultura de tecidos vegetais, por este motivo, o procedimento de desinfestação é tão crucial, propondo-se erradicar a presença de fungos, bactérias e quaisquer outros microrganismos dos tecidos vegetais (ANDRADE, 2002; PALÙ *et al.*, 2011).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Uma das possibilidades que vem sendo testada em pesquisas, é o uso de antibióticos para controlar as contaminações por bactérias (OLIVEIRA *et al.*, 2010). Sendo assim, objetivou-se com este trabalho analisar o cloridrato de ciprofloxacino no processo de desinfestação de explantes de sapucaia.

Metodologia

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, pertencente ao Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES), no município de Jerônimo Monteiro.

O material vegetativo utilizado foi coletado em plantas de sapucaia enxertadas cultivadas em casa de vegetação, sendo submetidas a aplicação semanalmente de fungicida, intercalando entre o Across® (2 mL L⁻¹) e o Serenade® (20 mL L⁻¹). Nessas plantas foram coletadas as brotações novas, sendo essas levadas para o Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, e com o auxílio de uma tesoura, foram separados os segmentos nodais contendo uma gema axilar, todos foram lavados em água corrente e detergente neutro. Após o preparo dos explantes, estes foram separados em seis quantidades iguais, e armazenados em Erlenmeyer (250 mL).

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, tríplice lavagem em água destilada e autoclavada, e posteriormente foi aplicado uma solução de cloridrato de ciprofloxacino (3 g L⁻¹) em diferentes tempos (0,5; 1; 2; 4 e 8 horas), onde permaneceram sob agitação em agitador orbital (Shaker) sob temperatura controlada a 27 °C, no escuro.

Após o tempo estabelecido para cada tratamento, todos foram lavados três vezes com água destilada e autoclavada, e submetidos ao fungicida Across (2 mL L⁻¹) onde permaneceram por 30 minutos no shaker, sob temperatura controlada a 27 °C, no escuro.

Em seguida, os explantes foram estabelecidos em tubos de ensaio contendo 5 mL do meio de cultura MS com vitaminas de Gamborg (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.

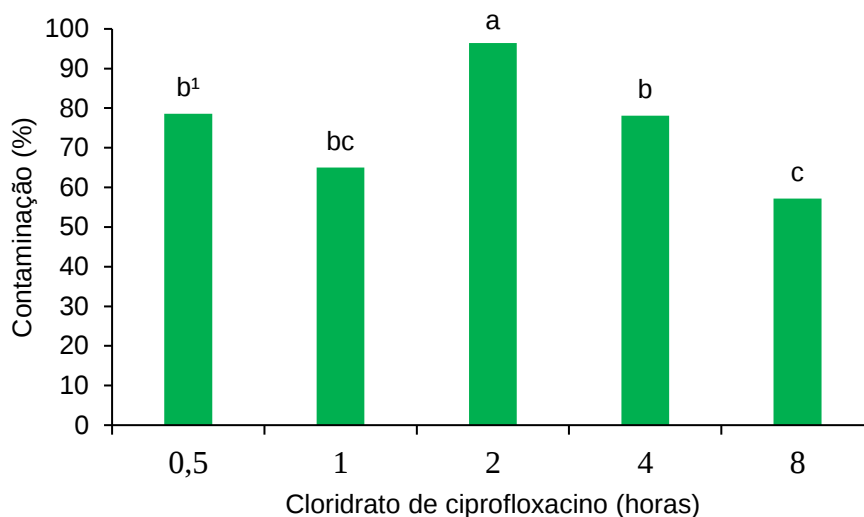
Após 21 dias, foi contabilizado o número de explantes contaminados para se calcular a porcentagem de contaminação, para determinação do tratamento mais eficiente. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos, e quatro repetições de cinco tubos de ensaio com um explante cada. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey (*p* < 0,05), com auxílio do software R (R CORE TEAM, 2023).

Resultados

Após 21 dias de estabelecimento, os melhores resultados foram encontrados no tratamento utilizando o cloridrato de ciprofloxacino por oito horas sob agitação, apresentando a menor média de contaminação (57,14%), dentre os tempos testados (Figura 1).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Figura 1- Porcentagem de contaminação nos diferentes tratamentos desinfestantes em segmentos nodais de *Lecythis pisonis*.



¹Médias não seguidas pela mesma letra diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Fonte: o autor.

Discussão

Cloridrato de ciprofloxacino por oito horas (57,14%), apresentou a menor contaminação (Figura 1).

O uso de antibióticos tem se mostrado eficiente na desinfestação de algumas espécies vegetais. Palú *et al.* (2011), obtiveram resultados eficazes ao adicionar antibióticos ao meio de cultura para controlar a contaminação em gemas apicais de figueira, tendo observado que ampicilina sódica, na concentração de 250 mg L⁻¹ por cinco minutos, proporcionou melhores resultados. Oliveira *et al.* (2010), registraram resultados satisfatórios, sobre a contaminação bacteriana no meio de cultura com *Citrus sinensis*, sendo observado que a utilização de 500 mg L⁻¹ de cefotaxima, comparado com os antibióticos: Timentin, Meropenem e Augmentin no meio de cultura, apresentou resultados vantajosos no controle da contaminação bacteriana, e influenciando positivamente no processo morfogênico da espécie. Porém, no presente estudo utilizando a sapucaia, será necessário desenvolver novos protocolos de desinfestação, aumentando o tempo de exposição e/ou o emprego de outros antibióticos para reduzir os percentuais de contaminação.

Conclusão

Cloridrato de ciprofloxacino por oito horas foi o tempo que proporcionou menor contaminação bacteriana *in vitro* nos explantes de sapucaia.

Referências

ANDRADE, S. R. M. **Princípios da cultura de tecidos vegetais**. Planaltina: Embrapa Cerrados. 2002.

BARRETO, K. G. *et al.* Perfil fitoquímico e avaliação da atividade antioxidante e citotóxica de um espécime de *Lecythis pisonis* Cambess. (Lecythidaceae). **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 6, 2020.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

CARVALHO, I. M. M. *et al.* Caracterização química da castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess) da região da zona da mata mineira. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 6, p. 971-977, 2012.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

OLIVEIRA, M. L. P. de *et al.* Growth regulators, culture media and antibiotics in the in vitro shoot regeneration from mature tissue of citrus cultivars. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 654-660, 2010.

PALÚ, E. G. *et al.* Uso de antibióticos para o controle de bactérias endógenas visando à micropropagação da figueira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 587-592, 2011.

R CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <<https://www.rproject.org/>>. Acesso em: 10 jul. 2023.

RIOS, M. N. S.; PASTORE J. F. **Plantas da Amazônia**: 450 espécies de uso geral. Universidade de Brasília, Brasília, DF 1650 p. 2011.

SMITH, N. P. **Lecythis in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB8561>. Acesso em: 31 jul. 2023.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa e inovação do Espírito Santo (FAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao CNPq - 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).

À FAPES - 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*).