

## PROTOCOLO DE DESINFESTAÇÃO DE BOTÃO FLORAL DE *Lecythis pisonis* CAMBESS

**Simone Wellita Simão de Carvalho<sup>1</sup>, Taisa de Fátima Rodrigues de Almeida<sup>1</sup>, Débora Pellanda Fagundes<sup>1</sup>, Ingridh Medeiros Simões<sup>2</sup>, Joana Silva Costa<sup>2</sup>, José Carlos Lopes<sup>1</sup>, Rodrigo Sobreira Alexandre<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal do Espírito Santo - Departamento de Agronomia, Alto Universitário, s/n, Guararema, 29500-000, Alegre - ES, Brasil, simonewellita@gmail.com, aalmeida049@gmail.com, debora.pellanda@yahoo.com.br, jcufes@bol.com.br

<sup>2</sup>Universidade Federal do Espírito Santo/Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, Avenida Governador Lindemberg, 316, 29550-000, Jerônimo Monteiro - ES, Brasil, simoes.ingridh@gmail.com, joanasilvacosta9@hotmail.com, rodrigossobreiraalexandre@gmail.com

### Resumo

*Lecythis pisonis* Cambess, é uma espécie endêmica do Brasil, conhecida popularmente como sapucaia em alguns estados brasileiros, sua ocorrência é registrada nos biomas de Floresta Atlântica e Amazônica. A interferência de fatores fisiológicos e ambientais, têm influenciado em sua baixa frequência nas florestas. Para minimizar tais obstáculos, técnicas como a cultura de tecidos vegetais podem ser aplicadas para impulsionar a propagação da espécie, afim de garantir a conservação dos recursos genéticos. 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 uma planta matriz, localizada no mesmo município, os quais foram levados para desinfestação e estabelecimento em tubos de ensaio contendo meio de cultura. Foram avaliados oito tratamentos em dois tempos diferentes. O antibiótico amoxicilina 500 mg (3 g L<sup>-1</sup>), no tempo de 4 horas, apresentou máxima eficiência no controle da contaminação dos botões florais de *L. pisonis*.

**Palavras-chave:** Cultura de tecidos vegetais. Propagação vegetativa. Recursos genéticos.

**Área do Conhecimento:** Engenharia Agrônômica – Engenharia Florestal

### Introdução

*Lecythis pisonis* Cambess, é uma espécie endêmica do Brasil, conhecida popularmente como sapucaia em alguns estados brasileiros, sua ocorrência é registrada nos biomas de Floresta Atlântica e Amazônica (Smith, 2023). É uma árvore que apresenta porte elevado, produzindo uma madeira de qualidade que pode ser utilizada para diversas finalidades, incluindo as práticas de reflorestamento de áreas degradadas (Lorenzi, 1998). Seus frutos são responsáveis pela produção de cantanhas, as quais apresentam alto valor nutricional, sendo de grande importância para o uso na alimentação humana (Carvalho, 2013; Barreto et al., 2020, Brasil, 2022).

A sapucaia precisa de aproximadamente 10 anos para iniciar o processo de frutificação, e aliado a isto, está a interferência de fatores fisiológicos e ambientais, os quais têm influenciando na propagação da espécie fazendo com que ela ocorra em baixa frequência nas florestas (Brasil, 2022) uma vez que, a propagação seminífera não é eficiente, pois suas sementes podem apresentar dormência, e emergência desuniforme, podendo apresentar baixa viabilidade (Lorenzi, 1998; Rios; Pastore, 2011; Monteiro, 2015).

Para minimizar tais obstáculos, técnicas como a cultura de tecidos vegetais podem ser aplicadas para impulsionar a propagação da espécie, visto que, já vem sendo amplamente utilizada em várias espécies vegetais, incluindo as florestais, afim de garantir a conservação dos recursos genéticos por meio do uso de explantes vegetais que possuem um grau de determinação para adquirir novas competências na presença de reguladores de crescimento específicos, isso se deve a totipotencialidade presente nos materiais selecionados (Guerra; Nodare, 2016; Freire et al., 2024). Dada a importância da sapucaia, e a necessidade de conservação deste recurso genético para que não entre

em extinção, objetivou-se com este trabalho, desenvolver um protocolo de desinfestação para o uso de botões florais de *L. Pisonis* Cambess *in vitro*.

## 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 - ES.

Os botões florais foram coletados em uma planta matriz de *Lecythis pisonis* localizada na cidade de Jerônimo Monteiro - ES e transportados até o Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais. Com o auxílio de uma tesoura, os botões florais (explantes), foram separados e lavados em água corrente e detergente neutro. Após a biometria dos explantes, estes foram divididos em dois tamanhos: pequeno (1 cm) e grande (2 cm), e dispostos em quantidades iguais em oito 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, tríplex lavagem em água destilada e autoclavada, e posteriormente foram aplicados os tratamentos, os quais consistiram em: uma solução de amoxicilina 500 mg ( $3 \text{ g L}^{-1}$ ) e uma solução de rifampicina 600 mg ( $3 \text{ g L}^{-1}$ ), ambos antibióticos foram testados em dois intervalos de tempo, 2 horas e 4 horas e foram levados para um agitador orbital (Shaker) para agitação em temperatura controlada a  $27^\circ\text{C}$ , no escuro.

Tabela 1- Tratamentos avaliados na desinfestação de botão floral de *Lecythis pisonis* Cambess

Tratamentos	Descrição dos tratamentos	Tempo
1	Botão pequeno - Rifampicina	2 horas
2	Botão pequeno - Rifampicina	4 horas
3	Botão pequeno - Amoxicilina	2 horas
4	Botão pequeno - Amoxicilina	4 horas
5	Botão grande - Rifampicina	2 horas
6	Botão grande - Rifampicina	4 horas
7	Botão grande - Amoxicilina	2 horas
8	Botão grande - Amoxicilina	4 horas

Fonte: os autores (2024).

Após o tempo estabelecido para cada tratamento, os erlenmeyer contendo os explantes e os tratamentos foram levados para a câmara de fluxo laminar novamente, sendo estes lavados por três vezes com água destilada e autoclavada, e submetidos a solução do fungicida Across ( $4 \text{ mL L}^{-1}$ ) onde permaneceram por 30 minutos no shaker. Em seguida, os explantes foram estabelecidos em tubos de ensaio contendo 5 mL de meio de cultura MS com vitaminas de Gamborg (Murashige; Skoog, 1962) (Sigma - Aldrich®), suplementado com  $30 \text{ g L}^{-1}$  de sacarose (Dinâmica®),  $0,1 \text{ g L}^{-1}$  de mioinositol (Sigma - Aldrich®),  $1 \text{ g L}^{-1}$  de PVP (Synth®),  $5,5 \text{ g L}^{-1}$  de ágar (Kasvi®), e pH ajustado a  $5,7 \pm 0,1$ . Os tubos de ensaio foram preparados previamente. Após o estabelecimento dos explantes, os tubos foram mantidos em sala de crescimento sob irradiância de  $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , fotoperíodo de 8/16 horas e temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$ . O experimento foi realizado com 8 tratamentos, e quatro repetições de dez tubos de ensaio com um explante cada. Após sete dias de estabelecimento, foi contabilizado durante quatro semanas, a contaminação por fungos, bactérias e oxidação para verificar a porcentagem de contaminação e avaliação do melhor tratamento.

## Resultados

Os tratamentos avaliados, apresentaram diferenças. O tratamento 8 apresentou os melhores resultados em relação a porcentagem de contaminação por fungos e bactérias e na porcentagem de oxidação dos botões florais de *L. pisonis* Cambess, como pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2. Porcentagem de contaminação por fungos e bactérias, e porcentagem de oxidação de botão floral de *Lecythis pisonis* Cambess

Tratamentos	Contaminação (%)		Oxidação (%)
	Bactéria	Fungo	
1	30	0	70
2	97,5	0	2,5
3	25	0	75
4	40	0	60
5	0	2,5	35
6	2,5	2,5	30
7	0	0	25
8	0	0	0

Fonte: os autores (2024).

## Discussão

Um protocolo de desinfestação eficiente é a principal etapa para garantir o sucesso na cultura de tecidos vegetais. Desinfestar explantes provenientes de plantas cultivadas *ex vitro*, é um agravante ainda maior, pois essas plantas são expostas a todo momento a fatores contaminantes, e quando a desinfestação não é satisfatória o cultivo *in vitro*, torna-se um ambiente favorável para o desenvolvimento de bactérias e fungos (Silva et al., 2015). Por este motivo, o uso de antibióticos têm sido uma alternativa favorável para a desinfestação de materiais vegetativos. Visto que a contaminação dos explantes é um dos grandes problemas encontrados na cultura de tecidos vegetais (Andrade, 2002). O uso da amoxicilina no período de 4 horas, mostrou-se eficiente na desinfestação dos botões grandes de *L. pisonis* Cambess, por se tratar de um antibiótico de amplo espectro, o qual abrange grande parte dos microrganismos gram-positivos causadores de contaminações (Brunton et al., 2010).

## Conclusão

O antibiótico amoxicilina 500 mg (3 g L<sup>-1</sup>), no tempo de 4 horas, apresentou máxima eficiência no controle da contaminação em botões florais de *L. pisonis* Cambess.

## 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.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Secretaria de Biodiversidade. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região norte** / editores: Lidio Coradin, Julcéia Camillo e Ima Célia Guimarães Vieira – Brasília, DF: MMA, 2022.1452 p.
- BRUNTON, L. L. et al. Goodman & Gilman: manual de farmacologia e terapêutica. In: **Goodman & Gilman: manual de farmacologia e terapêutica**. 2010. p. 1220-1220.

CARVALHO, I. M. M. de. **Composição e efeito da castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) nos parâmetros bioquímicos, histológicos e inflamatórios em ratos alimentados com dieta de cafeteria.** Tese de doutorado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 106p. 2013.

FREIRE, G. S. et al. Viability and conservation of genipap tree pollen grains. **Revista Caatinga**, v. 37, p. e12071, 2024.

GUERRA, M. P. et al. FIT5507-Biotecnologia I: apostila v2016. 1. **Santa Catarina: UFSC**, 2016.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** 2a ed. Nova Odessa, SP. Plantarum, 1998.

MONTEIRO, T. L. **Divergência genética em sapucaia baseada em características juvenis.** Monografia de conclusão de curso. 2015. Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro. 27 p. 2015.

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.

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

SILVA, L. C. et al. Decontaminant solution on *in vitro* growth of *Byrsonima intermedia* seedlings. **Ciência Rural**, v. 45, n. 4, p. 674-679, 2015.

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: 29 ago. 2024.

## Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa e inovação do Espírito Santo (FAPES), pela concessão da bolsa de estudos - EDITAL FAPES Nº 12/2021 - PROGRAMA DE CAPACITAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS NA PÓS-GRADUAÇÃO - DOUTORADO (PROCAP 2022 – DOUTORADO).

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*).