

ESTRATÉGIAS PARA CONDIÇÕES ASSÉPTICAS APRIMORADAS: EXPLORANDO A SINERGIA DE SONICAÇÃO E CEFOTAXIMA NA CULTURA DE TECIDOS DE EUCALYPTUS GRANDIS

Ciências Agrárias, Volume 27 - Edição 128/NOV 2023 / 15/11/2023

REGISTRO DOI: 10.5281/zenodo.12750832

Paloma Vieira Brás¹

Pauliana Aparecida da Silva¹

RESUMO:

Buscando reduzir a contaminação endofítica durante o processo de micropropagação de um clone de *Eucalyptus grandis* in vitro, foram realizados testes utilizando a técnica de sonicação. Foram experimentados oito tratamentos, variando pulsos de três, seis e nove segundos, com e sem a adição do antibiótico cefotaxima. Dois controles foram estabelecidos: um sem sonicação em meio JADS padrão e outro sem sonicação, porém com a presença de cefotaxima no meio. Os resultados demonstraram a viabilidade do processo, destacando a eficaz redução da contaminação quando o explante foi submetido a nove segundos de sonicação em meio contendo cefotaxima.

Palavras-chave: micropropagação, antibióticos, contaminação, explante,

1. Introdução

A cultura de tecido desempenha um papel crucial nos estudos de diversas plantas, incluindo o eucalipto. A micropropagação *in vitro* emerge como uma ferramenta indispensável, sendo conduzida em condições assépticas para evitar contaminação (CID, 2014). A preservação da integridade do material vegetal é essencial, pois após múltiplos subcultivos, ocorre a liberação de bactérias endofíticas em algumas culturas (POLESI, 2020), apresentando desafios significativos para o desenvolvimento das plantas.

A contaminação por microrganismos, como fungos, leveduras, bactérias, vírus e viroides, pode resultar no descarte de material valioso, comprometendo a eficácia do processo (HERMAN, 1990). Diante disso, é imperativo desenvolver técnicas que minimizem a ocorrência e disseminação da contaminação. Reconhecendo a fragilidade das células bacterianas em comparação com os vegetais, a sonicação surge como uma ferramenta promissora para romper as células, tornando-se um aliado no controle da contaminação.

A compreensão dos microrganismos presentes no sistema *in vitro* é crucial para tomar decisões acertadas sobre a manutenção ou descarte das plântulas. A identificação de organismos endógenos, muitas vezes mutualísticos com a planta, destaca a complexidade na diferenciação entre benefício e patogenicidade, sendo essencial adotar estratégias de controle.

O uso criterioso de antibióticos desempenha um papel fundamental na prevenção de contaminações bacterianas, garantindo o sucesso das culturas de tecidos. A Cefotaxima, pertencente à classe dos beta-lactâmicos, destaca-se por sua eficácia contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sem afetar as células vegetais (POLLOCK et al., 1983). A

cuidadosa seleção e concentração de antibióticos são essenciais para evitar efeitos adversos, assegurando conformidade ética e regulamentar.

Além disso, a sonicação, amplamente utilizada na extração de compostos fenólicos em plantas (TEIXEIRA, 2018), apresenta potencial para otimizar a desinfestação quando associada a agentes antimicrobianos. A abordagem busca reduzir o tempo necessário para a penetração dos antibióticos, maximizando a eficiência do processo.

Nesse contexto, este estudo teve como objetivo avaliar o impacto da sonicação no auxílio ao controle e redução da contaminação endofítica em *Eucalyptus grandis* quando utilizado o antibiótico cefotaxima.

2. Material e Métodos

Para o presente estudo, foi utilizado um clone tetraploide de *Eucalyptus grandis* existentes em banco clonal “in vitro” e cultivados em meio JADS, definido por correia (1995), acrescidos de 0,5 mg L⁻¹ de BAP(6-benzilaminopurina) + 0,01 mg L⁻¹ de ANA (ácido naftalenoacético) e com 6 mg L⁻¹ de ágar para fixação. Os tratamentos possuíam um explante por tubo, tendo um total de 10 tubos por tratamento, todos explantes foram previamente padronizados sem raiz ou calo, com 0,5 cm de altura e possuindo gema apical. Os explantes foram submetidos a diferentes pulsos de tempo durante a sonicação e alguns submetidos a sonicação mais a presença de cefotaxima, conforme descrito a seguir:

-1º tratamento – Controle positivo. Os explantes foram inseridos no tubo de ensaio contendo o meio de cultura estabelecido.

-2º tratamento – Os explantes foram sonicados em tubo falcon contendo meio JADS liquido por 3 segundos. Posteriormente inseridos no meio padrão estabelecido.

-3º tratamento – Os explantes foram sonicados em tubo falcon contendo meio JADS liquido por 6 segundos. Posteriormente inseridos no meio padrão estabelecido.

-4º tratamento – Os explantes foram sonicados em tubo falcon contendo

meio JADS líquido por 9 segundos. Posteriormente inseridos no meio padrão estabelecido.

-5º tratamento – Os explantes foram sonicados em tubo falcon contendo meio JADS líquido + 1 ml L⁻¹ de cefotaxima por 3 segundos.

Posteriormente inseridos em meio padrão acrescido de cefotaxima.

-6º tratamento – Os explantes foram sonicados em tubo falcon contendo meio JADS líquido + 1 ml L⁻¹ de cefotaxima por 6 segundos.

Posteriormente inseridos em meio padrão acrescido de cefotaxima.

-7º tratamento – Os explantes foram sonicados em tubo falcon contendo meio JADS líquido + 1 ml L⁻¹ de cefotaxima por 9 segundos.

Posteriormente inseridos em meio padrão acrescido de cefotaxima.

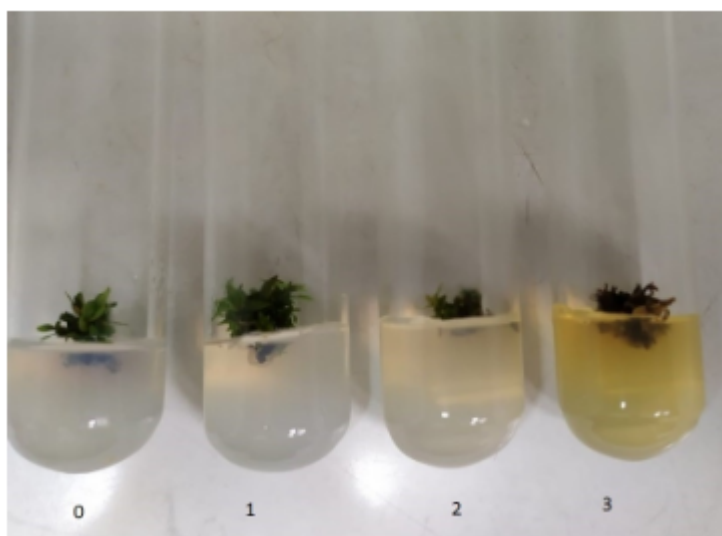
-8º tratamento – Controle Negativo. Os explantes foram inseridos no tubo de ensaio contendo o meio de cultura estabelecido + cefotaxima.

Os tratamentos foram acomodados em grades para tubos de ensaio (50 ml), seguindo fileira que acomoda até 10 tubos. O material foi mantido em sala de cultivo com fotoperíodo de 16 horas, com temperatura constante de 25± 2° C, exposto a luz led. A avaliação do experimento ocorreu 30 dias após a implantação.

Das análises estatísticas fez-se o teste de amostras independentes no software SPSS, com 95% de confiabilidade.

Além disso fez-se a porcentagem de contaminação por tratamento, analisando tubo a tubo. Atribui-se valor 0 quando não houve nenhuma contaminação, 1 para pouca contaminação, 2 para contaminação intermediária e 3 para muito contaminada.

FIGURA 1. Diferentes níveis de contaminação.



3. Resultados e Discussão

Foi observado que todos os tratamentos obtiveram um nível de contaminação, exceto o tratamento sete, tratamento de maior tempo de exposição a sonicação e com presença de cefotaxima. Os tratamentos que tiveram repetições com ausência de contaminação foram os tratamentos cinco e oito, ambos com presença de cefotaxima. Para os tratamentos sem antibiótico foi observado que todas as repetições tiveram algum nível de contaminação. Também podemos observar que o único tratamento que teve 100% de pouca contaminação foi aquele que não foi exposto a sonicação, os demais sofreram estresse nos processos de pulso.

TABELA 1. Porcentagem do nível de contaminação para cada tratamento.

Tratamento s	Ausente	% Contaminação		Muita
		Pouca	Intermediária	
1	0	100	0	0
2	0	40	40	20
3	0	90	10	0
4	0	90	10	0

5	70	0	30	0
6	0	50	50	0
7	100	0	0	0
8	40	50	10	0

Os resultados de análises de variância mostraram diferenças significativas ($P < 0,05$) para interação entre os tratamentos em relação aos controles. O tratamento sonicado por três segundos (tratamento cinco) e que estava com cefotaxima em relação ao controle positivo obteve variâncias pouco diferentes ou iguais e nesse caso a sonicação não afetou a contaminação. Esse mesmo tratamento cinco em relação ao controle com cefotaxima, as variâncias foram estatisticamente diferentes, nesse caso também não houve relação entre esses tratamentos de acordo com o teste T. Outra interação necessária a observar é a relação entre o tratamento sete (sonicado por nove segundos com presença de cefotaxima ao meio), e o controle apenas com cefotaxima. O tratamento sete não apresentou nenhuma contaminação e quando analisado a com o controle de cefotaxima a variância apresentou pouca diferença ou igualdade. Nesse caso há relação desses tratamentos.

4. Conclusão

Com base nos dados encontrados para a contaminação infere-se que os explantes que sofreram sonicação passaram por stress e consequentemente houve aparição em maior nível de contaminação endofítica, isso para aqueles com e sem presença de cefotaxima. Essa afirmação, exclui a sonicação por nove segundos com presença de cefotaxima, esse tratamento não obteve nenhuma contaminação, assim, pressupõe que a sonicação por esse tempo faz com que a cefotaxima funcione de forma mais eficiente, reduzindo drasticamente a contaminação. Portanto na intenção de diminuir a contaminação

endofítica em um explante de *Eucalyptus grandis* pode-se utilizar a sonicação por nove segundos em meio onde há presença de cefotaxina.

5. Literatura Citada

CID, L. P.B. **Cultivo in vitro de plantas**. 3. ed. Brasília, DF: Editora EMBRAPA, 2014.

CORREIA, D.; GONÇALVES, A. N.; COUTO, H. Z. DO; RIBEIRO, M. C. Efeito do meio de cultura líquido e sólido no desenvolvimento de gemas de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* na multiplicação in vitro. IPEF, v. 48, n. 49, p. 107- 116, 1995.

HERMAN, E. B. Bacterial Contamination in micropropagation. Agricell Report, Mohegan Lake, v.14, p. 41-43, 1990b.

POLESI, N.P.E. Artigo de Revisão / Review Paper Contaminação versus manifestação endofítica: implicações no cultivo in vitro de plantas.

Rodriguésia – Revista do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Piracicaba, Rodriguésia 71: e00562018. 2020, <http://rodriguesia.jbrj.gov.br> , DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860202071072>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rod/v71/2175-7860-rod-71-e00562018.pdf>. Acesso em: 20 out. 2020.

POLLOCK, K; BARFIELD, D. G.; SHIELDS, R. The toxicity of antibiotics to plant cell cultures. Plant Cell Reports, Berlin, v. 2, p. 36-39, 1983.

TEIXEIRA, B A. Otimização da extração assistida por ultrassom de antocianinas e fenólicos totais de frutas vermelhas produzidas no Brasil. 2018. 45 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2018

¹Universidade Federal de Viçosa (paloma.bras@ufv.br, pauliana.silva@ufv.br)

[← Post anterior](#)

[Post seguinte →](#)

RevistaFT

A RevistaFT têm 28 anos. É uma **Revista Científica Eletrônica Multidisciplinar Indexada de Alto Impacto e Qualis “B2”**.

Periodicidade mensal e de acesso livre. Leia gratuitamente todos os artigos e publique o seu também [clcando aqui](#).



Contato

Queremos te ouvir.

WhatsApp RJ:

(21) 98159-7352
ou 98275-4439

WhatsApp SP:

(11) 98597-3405

e-Mail:

contato@revistaf
t.com.br

ISSN: 1678-0817

CNPJ:

48.728.404/0001-
22

**FI= 5.397 (muito
alto)**

Fator de impacto é um método bibliométrico para avaliar a importância de periódicos científicos em suas respectivas áreas. Uma

Conselho Editorial

Editores

Fundadores:

Dr. Oston de
Lacerda Mendes.
Dr. João Marcelo
Gigliotti.

Editor

Científico:

Dr. Oston de
Lacerda Mendes

Orientadoras:

Dra. Hevellyn
Andrade
Monteiro
Dra. Chimene
Kuhn Nobre

Revisores:

Lista atualizada
periodicamente
em
revistaft.com.br/expresspediente Venha
fazer parte de
nosso time de

medida que
reflete o número
médio de
citações de
artigos
científicos
publicados em
determinado
periódico, criado
por Eugene
Garfield, em que
os de maior FI
são considerados
mais
importantes.

revisores
também!