



CONTAMINAÇÃO BACTERIANA, FÚNGICA E OXIDAÇÃO FENÓLICA NA MULTIPLICAÇÃO “*IN VITRO*” DE *Baccharis trimera*

SILVA, Jaqueline Schafer¹; MENDES, Natália Helena da Silva¹; KOEFENDER, Jana²;
MANFIO, Candida Elisa³; GOLLE, Diego Pascoal³;CAMERA, Juliane Nicolodi⁴;
SCHÖFFEL, André⁵; KAIPER, Cristiane^{6,7*}

Palavras- Chave: Carqueja. Planta medicinal. Cultura de tecido.

INTRODUÇÃO

O gênero *Baccharis*, da família Asteraceae, é constituído por cerca de 500 espécies. Uma das mais importantes é a *Baccharis trimera* (Less.) DC., também denominada *Baccharis genistelloides* var. *trimera* (Less.) Baker, conhecida como carqueja, com grande utilização na medicina tradicional e na produção de fitoterápicos (BORELLA et al., 2006). As espécies deste gênero têm porte arbustivo, com altura entre 0,5 e 4,0 metros, bastante ramificados e na base possui caules e ramos verdes com expansões trialadas e as inflorescências são do tipo capítulo, dispostas lateralmente nos ramos de cor esbranquiçada (LORENZI & MATOS, 2002). Esta planta apresenta ampla dispersão nos estados de Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Rio Grande do Sul (VERDI et al., 2005).

O cultivo *in vitro*, apresenta grande importância, pois oferece vantagens como o rápido aumento do número de plantas geneticamente idênticas, produção de mudas o ano todo e a preservação de recursos genéticos vegetais (SERAFIN, 2001). Porém existem inúmeros fatores que podem influenciar nesta técnica, dentre eles pode-se destacar a contaminação por

¹Bolsista PIBIC-EM CNPq/ UNICRUZ. E-mail: jaquelineschafer97@gmail.com

²Docente, Orientadora Dr^a. do Centro de Ciências da Saúde e Agrárias Universidade de Cruz Alta - UNICRUZ. E-mail: jkoefender@unicruz.edu.br

³Docente Dr.^a do Centro de Ciências da Saúde e Agrárias Universidade de Cruz Alta - UNICRUZ. E-mail: candidamanfio@gmail.com; dgolle@unicruz.edu.br

⁴Bolsista DOCFIX- CAPES/FAPERGS Universidade de Cruz Alta –UNICRUZ. Email:ju_camera@yahoo.com.br

⁵ Mestrando em Agronomia da Universidade Federal de Santa Maria-RS. E-mail:andre-schoffel@hotmail.com

⁶Bióloga, Esp., Técnica de Laboratório – UNICRUZ. E-mail: ckaiper@unicruz.edu.br E-mail:ckaiper@unicruz.edu.br

⁷ Polo de Inovação Tecnológica do Alto Jacuí, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais “in vitro”, Prédio 1, Sala 111, Campus, UNICRUZ, Cruz Alta, RS, Brasil. Cep: 98.020-290.

Apoio: SDECT-RS: Convênio SCIT 48/2013 e Bolsa PIBIC EM CNPq



fungos e bactérias (DONATO et al., 2005). O objetivo do trabalho foi determinar a frequência de oxidação fenólica e a de contaminantes na multiplicação de *Baccharis trimera* no cultivo *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ), Cruz Alta, RS. Conduzido em delineamento inteiramente casualizado, utilizando esquema bifatorial, sendo fator "A" meio de cultura (MS 100%, MS 50%) e fator "B" concentração de hipoclorito de sódio (0, 2,5%, 5%). O material vegetal utilizado foi colhido no Horto Medicinal do localizado no Laboratório de Multiplicação Vegetal do Pólo Tecnológico do Alto Jacuí. Os segmentos caulinares coletados, foram colocados em Becker de vidro com solução de fungicida, na concentração de 1 mL de fungicida Carbendazim ® para um 1500 mL de água destilada, que foi fechado com papel laminado e levado imediatamente ao Laboratório de Cultura de Tecidos para proceder-se aos processos de desinfestação.

O processo da desinfestação ocorreu da seguinte forma: 15 minutos em solução de fungicida (1 mL de fungicida para 1,500 mL de água), em seguida imersão em solução de hipoclorito de sódio nas diferentes concentrações (0; 2,5% e 5%) por 10 minutos, já na câmara de fluxo laminar, imersão em solução de álcool 70% por 1 minuto e após três lavagens com água destilada autoclavada, todas as etapas em constante agitação. O cultivo de segmentos apicais, de um cm, foi realizado em meio MS de 50% e 100% dos sais, acrescidos de 30 g L⁻¹ de sacarose, 7 g L⁻¹ de ágar. O pH foi ajustado para 5,8 e então foi feita a autoclavagem a 121°C por 15 minutos. O material foi mantido em sala de crescimento sob temperatura de 25 ± 1°C, fotoperíodo de 16 horas de luz/ 8 horas de escuro e intensidade luminosa de 35 μmol m⁻² s⁻¹ fornecida por lâmpadas fluorescentes branco-frias. Foram utilizados explantes com aproximadamente 1,5 cm, inoculados em frasco de vidro com 40 mL de meio de cultura. Tendo seis tratamentos com 15 frascos cada e um explante, totalizando 90 explantes inoculados. Foi avaliada a percentagem de oxidação fenólica, a contaminação por fungos e bactérias.

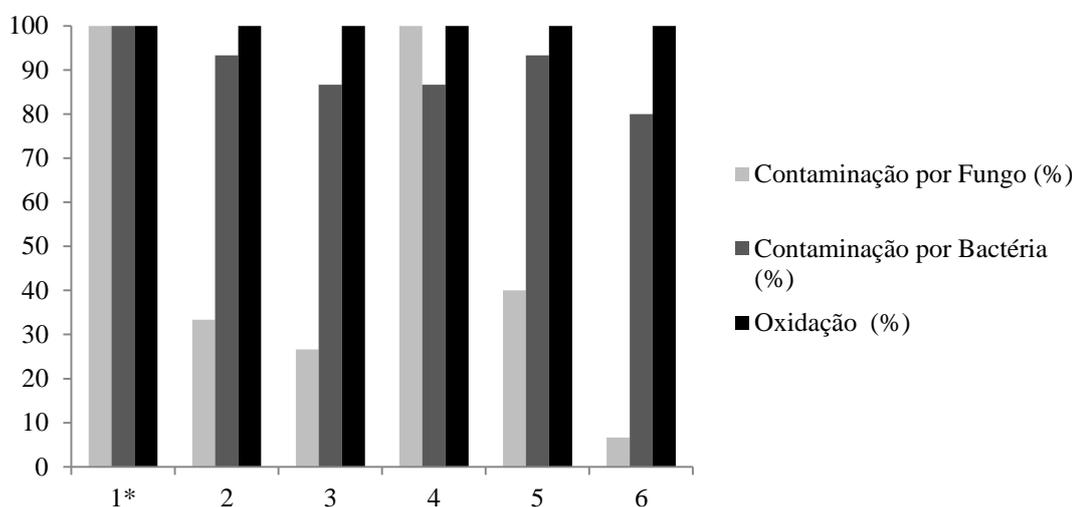


RESULTADOS E DISCUSSÕES

Todos os tratamentos apresentaram oxidação de 100%. Em relação a contaminação o tratamento 6 (Meio MS 100% + 5% Hipoclorito de sódio) apresentou a menor contaminação tanto para fungos como para bactérias. Porém observou-se que a utilização de hipoclorito é mais eficiente para o controle de fungos, comparado com o controle de bactérias (Figura 1).

A presença de microrganismos pode estar associada ao excesso de contaminantes nos explantes advindos do manuseio ou da desinfestação ineficaz destes (FAGUNDES et al., 2012). Estes microrganismos competem com os explantes por nutrientes do meio de cultura podendo provocar danos diretos e indiretos pela colonização de seus tecidos (MONTARROYOS, 2000). Várias substâncias com ação germicida são utilizadas para fazer a desinfestação dos explantes, dentre estes se destaca os compostos a base de cloro, tais como o hipoclorito de sódio (GRATTAPAG LIA & MACHADO, 1998). As combinações dos princípios ativos desinfestantes podem variar muito (MONTARROYOS, 2000), sendo necessária a adequação de acordo com a espécie e a sensibilidade do tecido a ser desinfestado.

Figura 1- Incidência de contaminação fúngica, bacteriana e oxidação fenólica na multiplicação “*in vitro*” de *B. trimera* para combinações de diferentes concentrações de MEIO MS e hipoclorito de sódio.
Universidade de Cruz Alta, RS, UNICRUZ, 2015.



*1= Meio MS 50% + 0% Hipoclorito de sódio; 2= Meio MS 50% +2,5% Hipoclorito de sódio; 3= Meio MS 50% + 5% Hipoclorito de sódio; 4= Meio MS 100% + 0% Hipoclorito de sódio; 5= Meio MS 100% + 2,5% Hipoclorito de sódio; 6= Meio MS 100% + 5% Hipoclorito de sódio



CONSIDERAÇÕES FINAIS

As concentrações de Meio MS e de hipoclorito de sódio não apresentam efeitos na diminuição de oxidação fenólica em *B. trimera* no cultivo *in vitro*.

A utilização de 5% de hipoclorito de sódio associado com MS 100% apresenta melhor controle de fungos contaminantes no cultivo *in vitro* de *B. trimera*.

REFERÊNCIAS

BORELLA, J.C.; DONATA, P.D.; NOVARETTI, A.A.G.; MENEZES JUNIOR, A.; FRANÇA, S.C.; RUFALO, C.B.; SANTOS, P.A.S.; VENEZIANI, R.C.S.; LOPES, N.P. Variabilidade sazonal do teor de saponinas de *Baccharis trimera* (Less.) DC (Carqueja) e isolamento de flavona. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.4, p.557-61, 2006.

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, p. 134-141, 2005.

FAGUNDES, L. S.; BERNARDY, K.; KOEFENDER, J. ; GOLLE, D. P. ESTUDO PRELIMINAR DO ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE (*Campomanesia guazumifolia* [Cambess.] O. Berg) – MYRTACEAE. **In: XVII SEMINÁRIO INSTITUCIONAL DE ENSINO PESQUISA E EXTENSÃO, XV MOSTRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA X MOSTRA DE EXTENSÃO, 2012, Cruz Alta. Anais...** Cruz Alta: Unicruz, 2012.p 2-3.

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: SPI / Embrapa - CNPH, v.1, p.183-260, 1998.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. 1. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, Nova Odessa, 2002, p.512.

MONTARROYOS, A.V.V. Contaminação *in vitro*. **ABCTP Notícias**, Brasília, n.36 e 37, p.5-10, 2000.

SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M. de; AZEVEDO, J. L. de. **Biotecnologia na Agricultura e na Agroindústria**. Guaíba RS: Ed. Agropecuária, 2001. 463 p.

VERDI, L.G.; BRIGHENTE, I.M.C.; PIZZOLATTI, M.G. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, v.28, n.1, p.85-94, 2005.