



PROTOCOLOS DE ASSEPSIA PARA O ESTABELECIMENTO *in vitro* DE GEMAS

AXILARES DE *Celosia argentea* var. *plumosa*

Camilly M. PAULINO¹; Priscila P. BOTREL²

RESUMO

A espécie *Celosia argentea* var. *plumosa*, é uma planta herbácea anual, amplamente cultivada como ornamental e seu cultivo *in vitro* pode ser muito útil na produção em larga escala. O objetivo do presente trabalho foi de desenvolver protocolos de assepsia eficientes para o estabelecimento *in vitro* de gemas axilares da espécie em estudo. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 5 tratamentos, 5 repetições e 4 tubos por parcela experimental. Os tratamentos consistiram em diferentes métodos de assepsia utilizando tempo de exposição e concentrações de hipoclorito de sódio diferentes, com ou sem uso prévio de álcool 70%. O tratamento 4, que combinou álcool 70% por um minuto e hipoclorito de sódio 100% por 15 minutos, proporcionou maior eficiência no controle da contaminação. Nos demais tratamentos foram observados altos níveis de contaminação. Quanto à oxidação da parte aérea, observou-se elevados níveis. Diante disso, os resultados obtidos contribuem para melhorias nos protocolos de assepsia para o estabelecimento de *Celosia argentea* var. *plumosa in vitro*.

Palavras-chave: Controle de contaminação; Crista-de-galo; Micropropagação; Oxidação; Explantes.

1. INTRODUÇÃO

A espécie *Celosia argentea* var. *plumosa*, conhecida popularmente como crista-de-galo-plumosa, é uma planta herbácea anual, amplamente cultivada como ornamental em regiões tropicais e subtropicais, pertencente à família Amaranthaceae, originária na Ásia, mais especificamente na Índia. Apresenta um porte médio que pode variar de 40 centímetros a 2 metros, com caule ramificado e folhas alternadas. Sua principal característica morfológica está na inflorescência plumosa terminal, composta por numerosas e pequenas flores hermafroditas de cores vibrantes, que variam entre tons de amarelo e vermelho (*Celosia argentea*; BRASIL, s.d.). Esta espécie também possui diversas atividades biológicas como agente antiinflamatório, antioxidante, anticancerígeno e antibacteriano tendo um grande potencial farmacológico (LUO et al., 2024).

O cultivo *in vitro* de plantas é um método de propagação assexuada que se baseia na totipotência das células vegetais, que possuem a capacidade de gerar outra planta a partir de um tecido, e tem como principal objetivo produzir plantas saudáveis e uniformes, utilizando menos tempo do que os métodos usuais, com manutenção reduzida e condições estéreis (CANÇADO et al., 2014). Portanto, a micropropagação de tecidos *in vitro* ainda enfrenta adversidades quanto à alta porcentagem de contaminação microbiana, principalmente com explantes vindos diretamente do

¹Graduando em Licenciatura em Ciências Biológicas, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: camilly.mariana@alunos.ifsuldeminas.edu.br.

²Orientador, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: priscila.botrel@muz.ifsuldeminas.edu.br.

campo, sendo grande responsável por grandes perdas de plântulas. Esses microrganismos competem com o tecido vegetal pelos nutrientes e liberam metabólitos tóxicos que acabam os matando (AZOFEIFA-BOLAÑOS, 2019). Diferentes métodos de desinfecção são aplicados, porém, os mais utilizados são álcool 70% e o hipoclorito de sódio que possuem um alto potencial germicida, e se mostram muito eficientes em diversas espécies (ESPOSITO-POLESI, 2020). Diante disso, o presente trabalho objetivou desenvolver protocolos de assepsia eficientes para o estabelecimento *in vitro* de gemas axilares de *Celosia argentea* var. *plumosa*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia e Cultura de Tecidos Vegetais, do Instituto Federal do Sul de Minas (IFSULDEMINAS), Campus Muzambinho, no primeiro semestre de 2025. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 5 tratamentos, 5 repetições e 4 tubos por parcela experimental. Foram constituídos cinco tratamentos, sendo eles: T1 (Limpeza em água corrente e 15 minutos em agitação no hipoclorito de sódio a 50%), T2 (Limpeza em água corrente, 1 minuto em álcool 70%, lavagem em água e 15 minutos no hipoclorito de sódio a 50%), T3 (Limpeza em água corrente, 1 minuto em álcool 70%, lavagem em água e 20 minutos no hipoclorito de sódio a 50%), T4 (Limpeza em água corrente, 1 minuto em álcool 70%, lavagem em água e 15 minutos no hipoclorito de sódio a 100%), T5 (Limpeza em água corrente, um minuto em álcool 70%, lavagem em água e 20 minutos no hipoclorito de sódio a 100%). Foi utilizado o meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), com inoculação de uma gema axilar por tubo.

A coleta das gemas axilares de *Celosia argentea* var. *plumosa* foi realizada no jardim do Prédio Pedagógico da Engenharia Agrônômica do IFSULDEMINAS, Campus Muzambinho. Após a coleta foi realizada a limpeza em água corrente para remoção de impurezas superficiais. Posteriormente foi realizado o preparo das soluções para assepsia. Em seguida, as gemas axilares foram retiradas da água e foram realizados os procedimentos de assepsia respectivos aos tratamentos. Após os procedimentos, foi realizada a inoculação de uma gema axilar por tubo na capela de fluxo laminar. Os tratamentos foram acondicionados em sala de crescimento e acompanhados com análises semanais abordando os aspectos de contaminação e oxidação do tecido até 35 dias de cultivo *in vitro* (5 semanas). Após as avaliações experimentais, os dados foram inseridos em uma planilha do LibreOffice Calc e analisados com o software SISVAR 5.8, utilizando um nível de significância de 5% (a 5% de probabilidade). A análise de variância (ANOVA) foi complementada pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott. Os gráficos foram elaborados utilizando o software Microsoft Excel.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da pesquisa revelaram como os diferentes métodos de assepsia interferem significativamente no estabelecimento *in vitro* da *Celosia argentea* var. *plumosa*, destacando as variações significativas na resposta da planta aos diferentes tipos de tratamentos. Quanto aos níveis de contaminação fúngica, o tratamento 1 (hipoclorito de sódio 50% por 15 minutos, sem álcool) proporcionou os maiores índices, sempre acima de 86%. Já no tratamento 2 (álcool 70% por um minuto e hipoclorito de sódio 50% por 15 minutos) houve baixa contaminação no início do cultivo (<30%), mas posteriormente aumentou até 80%. O tratamento 3 (álcool 70% por um minuto e hipoclorito de sódio 50% por 20 minutos) iniciou com 47% e também alcançou 80%. O tratamento 4 (álcool 70% por um minuto e hipoclorito de sódio 100% por 15 minutos), apresentou nas primeiras semanas uma certa resistência, com cerca de 30% de contaminação, esse valor chegou a 40% na semana cinco. Já o tratamento 5 (álcool 70% por um minuto e hipoclorito de sódio 100% por 20 minutos), iniciou com 42% e estabilizou em torno de 66% nas últimas semanas (Figura 1).

Quanto aos níveis de oxidação da parte aérea analisados ao longo das cinco semanas em que o experimento foi conduzido, todos os tratamentos apresentaram altas porcentagens. O tratamento 1 (hipoclorito de sódio 50% por 15 minutos, sem álcool) apresentou um altíssimo nível de oxidação da parte aérea durante todas as semanas, se mantendo em cerca de 86% de oxidação. Já o tratamento 2 (álcool 70% por um minuto e hipoclorito de sódio 50% por 15 minutos) começou com uma oxidação mais baixa, em torno de 53%, mas esse valor aumentou gradativamente até atingir 66% na semana cinco. O tratamento 3 (álcool 70% por um minuto e hipoclorito de sódio 50% por 20 minutos) permaneceu com aproximadamente 60% de oxidação nas três primeiras semanas, porém apresentou aumento, chegando a 80% nas duas últimas semanas. Já os tratamentos 4 e 5 (álcool 70% por um minuto e hipoclorito 100% por 15 e 20 minutos, respectivamente) iniciaram a análise com cerca de 71% de oxidação da parte aérea e se mantiveram estáveis nas semanas seguintes, com valores em torno de 73% (Figura 2).

Figura 1 – Porcentagem de contaminação fúngica de *Celosia* sp. por tratamento em cinco semanas de cultivo *in vitro*.

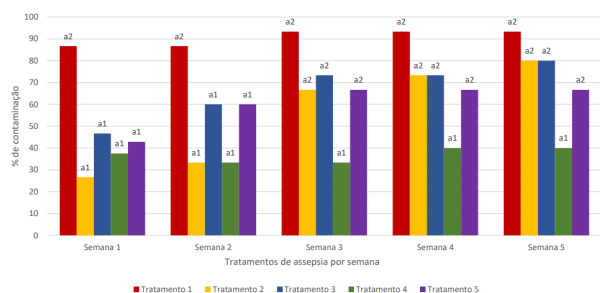
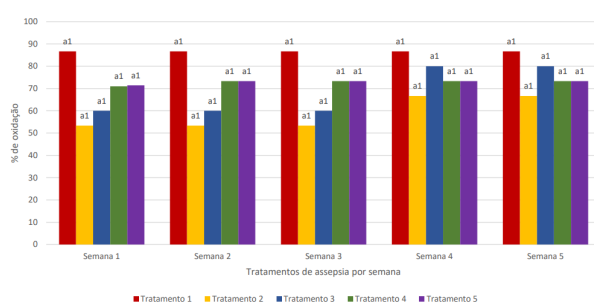


Figura 2 – Porcentagem de oxidação da parte aérea de *Celosia* sp. por tratamento em cinco semanas de cultivo *in vitro*.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

O tratamento 4 se destacou como o mais eficiente no controle da contaminação fúngica no cultivo *in vitro* de *Celosia argentea* var. *plumosa*, apresentando 40% de contaminação na quinta semana, se diferenciando estatisticamente dos demais, o que evidencia a eficácia germicida do álcool 70% e do hipoclorito de sódio na desinfecção de materiais oriundos do campo (ESPOSITO-POLESI, 2020). Apesar disso, os elevados níveis de oxidação registrados em todos os tratamentos, sem diferenças estatísticas significativas, sugerem que o tempo de exposição ao hipoclorito pode ter contribuído para o estresse oxidativo das plântulas.

4. CONCLUSÃO

O tratamento 4 proporciona maior eficiência no controle da contaminação fúngica no cultivo *in vitro* de *Celosia argentea* var. *plumosa*, ao final de 35 dias de cultivo. Para a oxidação dos tecidos não há diferença entre os tratamentos analisados. Por mais que os resultados do tratamento com álcool 70% por um minuto e hipoclorito de sódio 100% por 15 minutos tenham apresentado melhores respostas, o ideal para alcançar um número maior de plântulas estéreis é a aplicação de outros métodos de assepsia combinados, visando a esterilidade completa.

REFERÊNCIAS

- AZOFEIFA-BOLANOS, José Bernal et al. Efecto de la desinfección de segmentos nodales sobre el rendimiento morfogénico de vitroplantas de *Vanilla planifolia* Andrews. **Agron. Mesoam**, San Pedro, v. 30, n. 1, p. 33-49, Apr. 2019. Disponível em: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1659-13212019000100003&lng=en&nr=m=iso. Acesso em: 4 jul. 2025.
- CANÇADO, Geraldo Magela de Almeida et al. Cultivo de plantas *in vitro* e suas aplicações. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 253, p. 64-74, Dez. 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/234059674_Cultivo_de_plantas_in_vitro_e_suas_aplicacoes. Acesso em: 4 jul. 2025.
- BRASIL. Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO). **Herbário Prof. Jorge Pedro Pereira Carauta (HUNI)**. *Celosia argentea* L. [s.l.], [s.d.]. Disponível em: <https://www.unirio.br/ccbs/ibio/herbariohuni/celosia-argentea>. Acesso em: 31 jul. 2025.
- ESPOSITO-POLESI, Natalia Pimentel. Contaminação *versus* manifestação endofítica: implicações no cultivo *in vitro* de plantas. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v.71, n.71, 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rod/a/KRFnLTP6V8br3fRRfQKGVKf/?lang=pt>. Acesso em: 4 jul. 2025.
- LUO, Yawen et al. *Celosia cristata* L.: A review of its traditional uses, phytochemistry, pharmacology, toxicology, and quality control, along with network pharmacological analysis of its components and targets. **Journal of Ethnopharmacology**, Países Baixos, v.332, n.332, Out. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S037887412400624X>. Acesso em: 4 jul. 2025.
- MURASHIGE, Toshio; SKOOG, Folke. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>. Acesso em: 3 jul. 2025.