

DETERMINAÇÃO DE PROTOCOLO DE DESINFESTAÇÃO DO MUSGO ANTÁRTICO SANIONIA UNCINATA (HEDW.) LOESKE

Bruna Mota Bernardes¹

Bruna Mota Bernardes²

Maria Victória Magalhães de Vargas³

Filipe De Carvalho Victoria⁴

Mônica Munareto Minozzo⁵

Resumo:

O continente Antártico embora seja formado em sua totalidade por gelo e possua características singulares, também apresenta uma enorme variedade de organismos vivos com características peculiares e adaptados para sobreviver em temperaturas negativas. A simplicidade de desenvolvimento dos musgos aliada à facilidade para aplicação de abordagens genéticas faz com que estes sejam utilizados em estudos de processos biológicos e moleculares em plantas (COVE, D. 2005) entretanto, os musgos antárticos dificilmente apresentam a fase diploide e fértil do esporófito, dificultando seu cultivo em laboratório pela ausência de esporos (CASANOVA-KATNY, A. et al., 2016). Com isso, o objetivo do presente trabalho foi definir um protocolo de desinfestação para o cultivo de *Sanionia uncinata* a partir de amostras antárticas. Amostras de *Sanionia uncinata* foram coletadas em janeiro de 2015 durante a Operantar XXXIII na Ilha Elefante na Antártica e armazenadas no laboratório a 20°C. Foram adaptados e testados 3 protocolos de desinfestação, sendo eles: 1. Álcool e Hipoclorito (Adaptado de CVETIC, T. et al., 2007): 40mg de gametófitos de *Sanionia U.* foram colocados em álcool 70% durante 45s, lavados três vezes com água destilada autoclavada, colocados em Hipoclorito 75% durante 1min e lavados três vezes novamente com água destilada autoclavada. Logo após, foram transferidos para tréplicas de meio MS (MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A., 1962) e meio MS com 4% de sacarose, ambos sem adição de ágar. 2. Sulfato de cobre e Hipoclorito + Tween (Adaptado de ZÚÑIGA, Gustavo E. et al. 2009): 40mg de gametófitos de *Sanionia U.* foram colocados em 200ml uma solução aquosa contendo 0,25ml/L de sulfato de cobre por 15min, lavados três vezes com água destilada autoclavada, colocados em uma solução contendo 10% de Hipoclorito e 0,01% de Tween por 10min e lavados três vezes novamente com água destilada autoclavada. Logo após, foram transferidos para tréplicas de meio MS (MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A., 1962) e meio MS com 4% de sacarose, ambos sem adição de ágar. 3. Derosal plus® e Hipoclorito + Tween (Adaptado de ZÚÑIGA, Gustavo E. et al. 2009): 40mg de gametófitos de *Sanionia U.* foram colocados em 200ml de uma solução aquosa contendo 0,2l do fungicida por 15min, lavados

três vezes com água destilada autoclavada, colocados em uma solução contendo 10% de Hipoclorito e 0,01% de Tween por 10min e lavados três vezes novamente com água destilada autoclavada. Logo após, foram transferidos para trélicas de meio MS (MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A., 1962) e meio MS com 4% de sacarose. Após as desinfestações e o cultivo em tubos falcon, as amostras foram mantidas em um Shaker-Incubator, com agitação constante de 170rpms e temperatura de +/-20°C por 7 dias, coletados dados morfológicos e observadas as mudanças nos meios de cultivos. Com isso, podemos concluir que dentre os três protocolos o melhor método de desinfestação para Sanionia U. é a utilização do fungicida Derosal plus ® e Hipoclorito + Tween no qual houveram menos contaminações, juntamente com o cultivo em meio MS.

Palavras-chave: Briófitas; Desinfestação; Antártica

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

DETERMINAÇÃO DE PROTOCOLO DE DESINFESTAÇÃO DO MUSGO ANTÁRTICO SANIONIA UNCINATA (HEDW.) LOESKE

¹ Aluno de graduação. bruna.motaber@gmail.com. Autor principal

² Aluno de graduação. bruna.motaber@hotmail.com. Apresentador

³ Aluno de graduação. mariavictoriamaagalhaes@gmail.com. Co-autor

⁴ Docente. filipevictoria@unipampa.edu.br. Orientador

⁵ Aluno de pós-graduação. monica.m.minozzo@gmail.com. Co-orientador



DETERMINAÇÃO DE PROTOCOLO DE DESINFESTAÇÃO DO MUSGO ANTÁRTICO *SANIONIA UNGINATA* (HEDW.) LOESKE

1. INTRODUÇÃO

O continente Antártico embora seja formado em sua totalidade por gelo e possua características singulares, também apresenta uma enorme variedade de organismos vivos com características peculiares e adaptados para sobreviver em temperaturas negativas. Foi o último continente a ser descoberto pelo homem, sendo o mais frio, seco, ventoso, remoto e desconhecido. Apesar de longas investigações científicas, o conhecimento de seus recursos naturais e biológicos é ainda incompleto. Musgos, líquens e poucas angiospermas herbáceas concentram-se nas áreas mais livres de gelo, especialmente nas ilhas oceânicas periantárticas e no norte da Península (GONÇALVES, Patrícia Nunes et al., 2008). A Antártica também é alvo de estudos pelo fato de ser o continente mais conservado em termos biológicos, uma vez que possui apenas uma população temporária de pesquisadores. Segundo Zarzycki (1993), entre os musgos componentes das turfas, estão representantes das espécies *Sanionia uncinata* (Hedw.) Loesk., *Polytrichum juniperinum* Hedw., *P. alpinum* Hedw. e *Warnstorfia laculosa* (C. Muell.) Ochira e Matteri.

A simplicidade de desenvolvimento dos musgos aliada à facilidade para aplicação de abordagens genéticas faz com que estes sejam utilizados em estudos de processos biológicos e moleculares em plantas (COVE, D. 2005) entretanto, os musgos antárticos dificilmente apresentam a fase diploide e fértil do esporófito, dificultando seu cultivo em laboratório pela ausência de esporos (CASANOVA-KATNY, A. et al., 2016). Em contrapartida, o cultivo a partir do gametófito precisa passar por uma desinfestação para que sejam eliminados os microorganismos (como bactérias e fungos) sendo esse o fator limitante, uma vez que, é preciso que isso seja feito sem danificar a planta. Visto isso, a definição de um protocolo de desinfestação viável se torna essencial para trabalhos com cultivo de briófitas antárticas e para o estabelecimento de novas culturas de plantas, como a *Sanionia uncinata* (Hedw.) Loeske que é a principal constituinte das comunidades vegetais nas áreas de degelo da Península Keller e que apresenta a maior biomassa (FRANCELINO, Márcio Rocha et al, 2004) além de apresentar alto potencial biotecnológico. Também é divulgada como sendo generalizada na região da Península Antártica Ocidental (SMITH, 1996). Essa espécie de musgo é foco de diversas áreas como saúde, ecologia e cosmética. Uma dessas aplicações biotecnológicas é que devido à sua ocorrência em habitats abertos, *Sanionia u.* pode ser afetada por mudanças com radiação UV (LUD, D. et al., 2002).

Com isso, o objetivo do presente trabalho foi definir um protocolo de desinfestação para o cultivo de *Sanionia uncinata* a partir de amostras antárticas.

2. METODOLOGIA

Amostras de *Sanionia uncinata* foram coletadas em janeiro de 2015 durante a Operantar XXXIII na Ilha Elefante na Antártica e armazenadas no laboratório a 20°C. Foram adaptados e testados 3 protocolos de desinfestação, sendo eles:

1. Álcool e Hipoclorito (Adaptado de CVETIC, T. et al., 2007): 40mg de gametófitos de *Sanionia U.* foram colocados em álcool 70% durante 45s, lavados três vezes com água destilada autoclavada, colocados em Hipoclorito 75% durante 1min e lavados três vezes novamente com água destilada autoclavada. Logo após, foram transferidos para trélicas de meio MS (MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A., 1962) e meio MS com 4% de sacarose, ambos sem adição de ágar.
2. Sulfato de cobre e Hipoclorito + Tween (Adaptado de ZÚÑIGA, Gustavo E. et al. 2009): 40mg de gametófitos de *Sanionia U.* foram colocados em 200ml uma solução aquosa contendo 0,25ml/L de sulfato de cobre por 15min, lavados três vezes com água destilada autoclavada, colocados em uma solução contendo 10% de Hipoclorito e 0,01% de Tween por 10min e lavados três vezes novamente com água destilada autoclavada. Logo após, foram transferidos para trélicas de meio MS (MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A., 1962) e meio MS com 4% de sacarose, ambos sem adição de ágar.
3. Derosal plus ® e Hipoclorito + Tween (Adaptado de ZÚÑIGA, Gustavo E. et al. 2009): 40mg de gametófitos de *Sanionia U.* foram colocados em 200ml de uma solução aquosa contendo 0,2µl do fungicida por 15min, lavados três vezes com água destilada autoclavada, colocados em uma solução contendo 10% de Hipoclorito e 0,01% de Tween por 10min e lavados três vezes novamente com água destilada autoclavada. Logo após, foram transferidos para trélicas de meio MS (MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A., 1962) e meio MS com 4% de sacarose.

Após as desinfestações e o cultivo em tubos falcon, as amostras foram mantidas em um Shaker-Incubator, com agitação constante de 170rpms e temperatura de +/- 20°C por 7 dias, coletados dados morfológicos e observadas as mudanças nos meios de cultivos.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

Ao término do tempo de avaliação de 7 dias, podemos observar que os melhores métodos de desinfestação foram o 2 e 3 com 33% das amostras contaminadas, enquanto o 1 apresentou contaminação em 83% das amostras e os meios com MS apresentaram menos contaminações que os com menos sacarose.

O cultivo feito em dois meios diferentes, ambos Murashige & Skoog (MS) porém um com 4% de sacarose, levou em consideração que as briófitas não necessitam de tanto açúcar no meio e assim diminuiria o crescimento de microorganismos presentes. Entretanto, houveram menos contaminações nos meios MS controle o que evidencia a não influencia da quantidade de açúcar nesse trabalho.

Gráfico 1: Relação Tratamento x Frequência nos meios MS

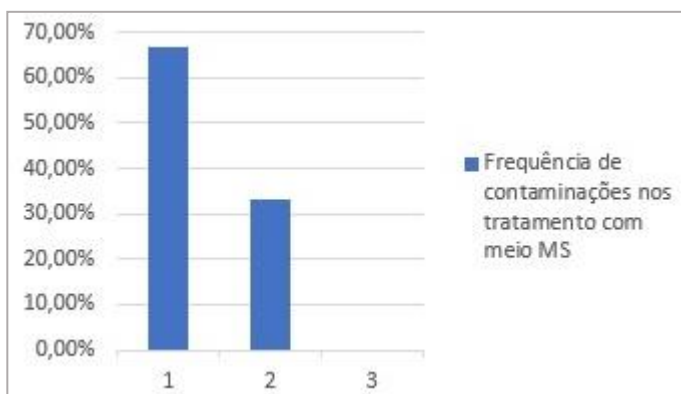
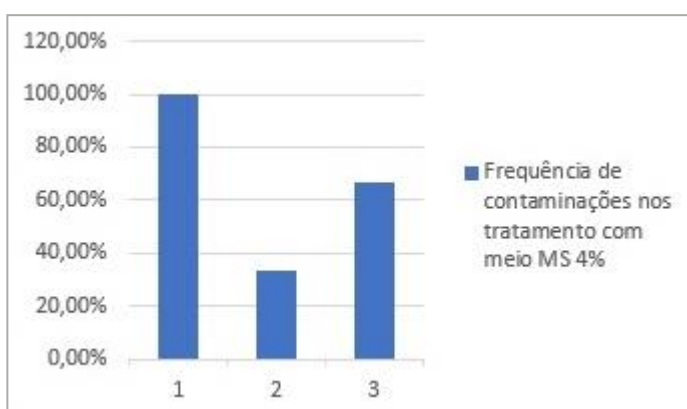


Gráfico 2: Relação Tratamento x Frequência nos meios MS 4%



4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com isso, podemos concluir que dentre os três protocolos o melhor método de desinfestação para *Sanionia U.* é a utilização do fungicida Derosal plus ® e Hipoclorito + Tween no qual houveram menos contaminações, juntamente com o cultivo em meio MS.

5. REFERÊNCIAS

LUD, D. et al. The influence of UV-B radiation on light-dependent photosynthetic performance in *Sanionia uncinata* (Hedw.) Loeske in Antarctica. *Polar Biology*, v. 26, n. 4, p. 225-232, 2003.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology*, Danvers, v.15, n. 3, p. 473-497, 1962

ZÚÑIGA, Gustavo E. et al. Short Note: Micropropagation of Antarctic *Colobanthus quitensis*. *Antarctic Science*, v. 21, n. 2, p. 149-150, 2009.

CVETIC, T.; SABOVLJEVIC, A.; SABOVLJEVIC, M.; GRUBSIC, D. Development of the moss *Pogonatum urnigerum* (Hedw.) P. Beauv. under in vitro culture conditions. *Archives of Biological Science*, Belgrade, v. 59, n. 1, p. 57-61, 2007

GONÇALVES, Patrícia Nunes et al. Morfologia dos grãos de pólen de angiospermas

modernas da Ilha King George, Ilhas Shetland do Sul, Península Antártica. *Gaea-Journal of Geoscience*, v. 4, n. 1, p. 24-31, 2008.

FRANCELINO, Márcio Rocha et al. Geoprocessamento aplicado ao monitoramento ambiental da Antártica Marítima: solos, geomorfologia e cobertura vegetal da Península Keller. 2004.

LUD, D. et al. DNA damage and photosynthesis in Antarctic and Arctic *Sanionia uncinata* (Hedw.) Loeske under ambient and enhanced levels of UV-B radiation. *Plant, Cell & Environment*, v. 25, n. 12, p. 1579-1589, 2002.

COVE, D. The Moss *Physcomitrella patens*. *Annu. Rev. Genes*, v. 39, p. 339-358, 2005