

Campus Colorado do Oeste
Coordenação do Curso em Engenharia Agrônoma

EMILLY MARIA VIEIRA BENEDITO

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES DOSES DE AMPICILINA NO CONTROLE DE
CONTAMINAÇÃO BACTERIANA NA GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE SEMENTES DE
DÁLIA**

COLORADO DO OESTE

2025

EMILLY MARIA VIEIRA BENEDITO

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES DOSES DE AMPICILINA NO CONTROLE DE
CONTAMINAÇÃO BACTERIANA NA GERMINAÇÃO IN VITRO DE SEMENTES DE
DÁLIA**

Artigo científico entregue como Trabalho de Conclusão de Curso ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia (IFRO), *Campus* Colorado do Oeste como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharela em Engenharia Agrônoma, sob a orientação da professora Dra. Dany Roberta Marques Caldeira.

COLORADO DO OESTE

2025

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Gerador de Ficha Catalográfica do IFRO,
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Benedito, Emilly Maria Vieira.
Avaliação de diferentes doses de ampicilina no controle de
contaminação bacteriana na germinação in vitro de sementes de dália
/ Emilly Maria Vieira Benedito, Colorado do Oeste-RO, 2025.
21 f.

Orientador(a): Prof^ª. Dra. Dany Roberta Marques Caldeira.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) –
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia -
IFRO, Colorado do Oeste-RO, 2025.

1. Antibiótico. 2. Biotecnologia vegetal. 3. Controle de patógenos.
4. Fitotoxicidade. 5. Ornamental. I. Caldeira, Dany Roberta Marques
(orient.). II. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de
Rondônia - IFRO. III. Título.

Bibliotecário(a) Responsável: Juliana Machado da Silva Sasset, CRB-11/1140 (Campus Colorado do Oeste)

RESUMO

Um dos grandes desafios do cultivo de plantas *in vitro* é a contaminação microbiana, pois pode comprometer o desenvolvimento dos explantes. Acerca dessa problematização, o presente trabalho testou o efeito de diferentes concentrações de ampicilina no meio de cultura, para controle da contaminação bacteriana em sementes de dália (*Dahlia pinnata*) na germinação *in vitro*. Foram realizados quatro tratamentos - T0 (sem adição de ampicilina); T1 (150 mg/L de ampicilina); T2 (200 mg/L de ampicilina) e T4 (250 mg/L de ampicilina) - com 10 repetições, ambos utilizando três sementes em cada repetição, totalizando assim, 40 unidades experimentais. O delineamento foi inteiramente casualizado. As avaliações ocorreram aos sete e 14 dias após a inoculação das sementes no meio de cultura. Analisaram-se as variáveis de percentual de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG) e contaminação por bactérias e/ou fungos. Os dados foram avaliados por meio do coeficiente de determinação (R^2). Os resultados indicaram que o tratamento T0, apresentou maior taxa de germinação, apesar da contaminação bacteriana. Em contrapartida, os tratamentos com ampicilina (T1, T2 e T3) apresentaram diminuição na germinação das plântulas, sugerindo a ocorrência de fitotoxicidade. A contaminação fúngica se manteve elevada em todos os tratamentos, o que ressalta, como esperado, a limitação do uso de ampicilina para o controle de fungos. Conclui-se que, é necessário realizar estudos adicionais para determinar as concentrações ideais de fungicidas e antibióticos que minimizem a fitotoxicidade sem comprometer a germinação de sementes de Dália.

Palavras-chave: Antibiótico; Biotecnologia vegetal; Controle de patógenos; Fitotoxicidade; Ornamental.

ABSTRACT

One of the great challenges of growing plants *in vitro* is microbial contamination, which can compromise the development of the explants. This study tested the effect of different concentrations of ampicillin in the culture medium to control bacterial contamination in dahlia seeds (*Dahlia pinnata*) during *in vitro* germination. Four treatments were carried out - T0 (no ampicillin added); T1 (150 mg/L ampicillin); T2 (200 mg/L ampicillin) and T4 (250 mg/L ampicillin) - with 10 repetitions, both using three seeds in each repetition, thus totaling 40 experimental units. The design was entirely randomized. Evaluations took place seven and 14 days after the seeds were inoculated into the culture medium. The variables of germination percentage, germination speed index (GVI) and contamination by bacteria and/or fungi were analyzed. The data was evaluated using the coefficient of determination (R^2). The results showed that the T0 treatment had the highest germination rate, despite bacterial contamination. On the other hand, the ampicillin treatments (T1, T2 and T3) showed a reduction in seedling germination, suggesting the occurrence of phytotoxicity. Fungal contamination remained high in all treatments, which highlights, as expected, the limitations of using ampicillin to control fungi. In conclusion, further studies are needed to determine the ideal concentrations of fungicides and antibiotics to minimize phytotoxicity without compromising the germination of Dahlia seeds.

Keywords: Antibiotic; Plant biotechnology; Pathogen control; Phytotoxicity; Ornamental.

1 INTRODUÇÃO

A floricultura – entendida como o conjunto das atividades produtivas e comerciais relacionadas ao mercado das espécies vegetais cultivadas com finalidades ornamentais - constitui-se em um dos mais novos, dinâmicos e promissores segmentos do agronegócio brasileiro (SEBRAE, 2015). No Brasil, a profissionalização e a comercialização da floricultura são fenômenos relativamente recentes. No entanto, a atividade já contabiliza números extremamente significativos. Nos últimos seis anos o setor ornamental tem obtido um crescimento bastante aceitável, fazendo o PIB (Produto Interno Bruto) da cadeia crescer expressivos 83,43% entre o ano de 2017 e 2022 (CEPEA; IBRAFLOR, 2023) (Figura 1).



Figura 1 – Evolução do PIB da cadeia de flores e plantas ornamentais entre os anos de 2017 e 2022 (em R\$ bilhões de 2022).

Fonte: Adaptado de CEPEA; IBRAFLOR (2023).

Em todo o Brasil existem atualmente 8.300 produtores dedicados ao cultivo de flores e plantas ornamentais. A região Sudeste concentra a maior parcela destes produtores, com 67,92% do total. Na segunda posição no ranking aparece a região Sul, com 12,30% de participação. Em seguida, aparecem as regiões Nordeste, com 10,33%; Norte, com 5,33%; e, finalmente, Centro-Oeste, com 4,13% (IBRAFLOR, 2023).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - (MAPA, 2022), existem mais de 1,8 mil espécies de flores e plantas ornamentais introduzidas no Brasil, disponíveis em um anexo na instrução normativa 64/2020 - onde consta no Art. 1º - Tornar pública a lista de referência de espécies vegetais

domesticadas ou cultivadas ornamentais que foram introduzidas no território nacional. Nesta lista é possível encontrar diversas espécies, como Bromélias (*Aechmea pubescens* Baker), Orquideas (*Agrostophyllum majus* Hook.f; *Coelogyne fimbriata* Lindl.; *Ornithocephalus bryostachys* Schltr.), Dálias (*Dahlia pinnata* Cav.), Cactus (*Obregonia denegrii* Fric.; *Mammillaria albilanata* Backeb.), entre muitas outras.

O mercado de flores e plantas ornamentais é amplamente dividido em três grandes segmentos: a) flores e plantas verdes em vasos, b) flores e folhagens de corte e c) plantas para paisagismo e jardinagem. O setor de flores e folhagens de corte, que inclui espécies como a Dália, consiste em hastes de flores ou folhagens colhidas/cortadas a partir das plantas-mãe., representa uma parcela significativa de 15% da área de produção florícola no Brasil (Figura 2) (Ibraflor, 2023).

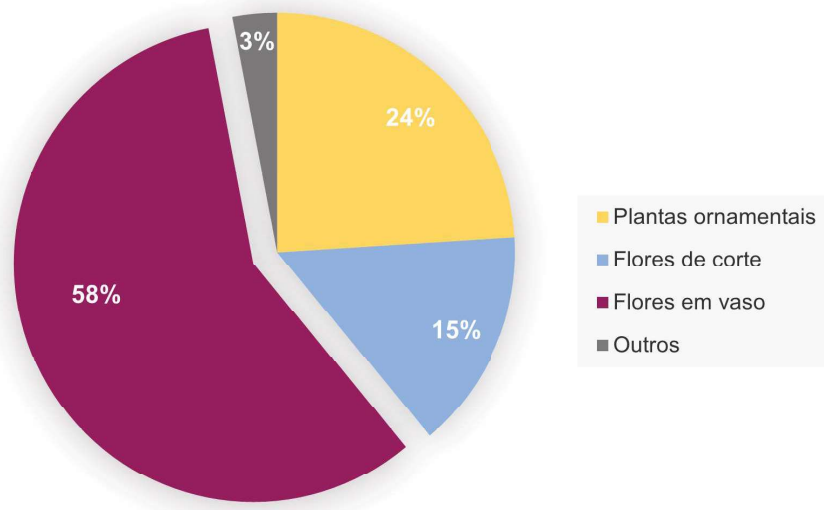


Figura 2 – Percentual da distribuição da área de produção florícola por segmento no Brasil.
Fonte: Adaptado de IBRAFLO (2023).

Isso evidencia que a produção e comercialização de flores de corte, como a Dália, destinadas à decoração, notadamente em arranjos florais, têm tido um crescimento significativo, impulsionado pela diversidade de cores e beleza da espécie (Mariña, 2015).

O gênero *Dahlia* pertence à família Asteraceae, sendo nativa do México. Tem um potencial atrativo para planta ornamental e suas duas principais espécies são *Dahlia pinnata* Cav. e *Dahlia coccinea* Cav. (Mariña, 2015). A diversidade de tipos, cores e tamanhos da espécie em estudo confere-lhe um considerável potencial econômico para o mercado de flores de corte, possibilitando a ampliação da

produção e, conseqüentemente, elevação da qualidade dos produtos oferecidos no mercado.

“O gênero *Dahlia* é formado por 35 espécies selvagens endêmicas do México, das quais apenas quatro constituem a base genética da dália cultivada” (Ovando; Boettler, 2006, p. 03). Dentre essas espécies, *Dahlia pinnata* Cav. e *Dahlia coccinea* Cav. se destacam como as principais espécies de interesse ornamental devido à sua diversidade de cores (Mariña, 2015), o que atribui à espécie em estudo um significativo potencial econômico para o mercado de flores de corte, possibilitando a ampliação da produção e, conseqüentemente, a elevação da qualidade dos produtos oferecidos no mercado.

A espécie em estudo pode ser propagada por semeadura, divisão de raízes tuberosas e estacas, sendo esta última a mais utilizada comercialmente. Entretanto, a técnica de cultivo *in vitro* destaca-se como a mais promissora, pois permite a propagação em larga escala, com maior rapidez e controle das condições de desenvolvimento (Mariña, 2015).

Nesse contexto, a cultura de tecidos vegetais é uma das principais abordagens do cultivo *in vitro*, possibilitando a propagação em larga escala e o desenvolvimento de mudas com alta qualidade genética e menor incidência de infecções por fungos e bactérias, o que é essencial para atender à crescente demanda do mercado (Andrade, 2002).

Com o objetivo de obter explantes sadios para o cultivo, a técnica de germinação *in vitro* surge como uma alternativa promissora para a obtenção de explantes livres de infestações, obtendo-se assim plântulas de qualidade (Moraes *et al.*, 2010; Silveira; Goldbach; Quoirin, 2016). Com a finalidade de produzir mudas, essa técnica configura-se como uma prática comum e bem estabelecida em estudos com diferentes espécies vegetais, incluindo plantas ornamentais.

Ferreira *et al.* (2017) avaliaram a germinação de sementes de *Alatiglossum fuscopetalum* (Orchidaceae) em quatro tratamentos, utilizando os meios de cultura Murashige & Skoog (MS e MS $\frac{1}{2}$), Knudson (KN) e Vacin & Went (VW). Os resultados mostraram que o meio $\frac{1}{2}$ MS proporcionou a maior taxa de germinação das sementes. A germinação *in vitro* de sementes de *Hyptis leucocephala* e *Hyptis platanifolia* (Lamiaceae), em cinco tratamentos (MS, MS $\frac{1}{2}$, WPM, ágar e controle), demonstraram que para ambas espécies o meio de cultura ideal para a germinação foi o MS $\frac{1}{2}$ (Nepomuceno, *et al.*, 2014). Blanck *et al.* (2013) germinaram sementes

de macambira em cinco tratamentos, com diferentes concentrações dos sais do meio MS (100, 75, 50, 25 e 0%), onde obtiveram resultados satisfatório quanto à porcentagem de germinação, não havendo diferença nas concentrações.

Segundo Monfort *et al.* (2015, p. 216):

Diversas formulações de meios básicos têm sido utilizadas no cultivo *in vitro*. Não há uma formulação padrão, mas o meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com suas modificações e diluições, tem sido utilizado com sucesso para diversas espécies.

Todavia uma das grande limitações da germinação *in vitro* se trata da alta incidência de contaminação bacteriana, que impõem consideráveis limitações mesmo na fase de introdução *in vitro* (Palú *et al.*, 2011).

Na cultura de tecidos, são essenciais o controle e a prevenção da contaminação microbiana, pois o meio de cultura proporciona um ambiente favorável para o crescimento de microrganismos, como bactérias, leveduras e fungos (Dantas *et al.*, 2002 *apud* Palú, *et al.*, 2011), representando as principais causas de perdas de material vegetal.

Inúmeras substâncias podem ser incorporadas aos meios de cultura com propriedades específicas, incluindo fungicidas e antibióticos, que desempenham um papel essencial no controle da contaminação, seja ela endógena ou exógena (Quinsen; Angelo, 2008). Logo, substâncias como antibióticos podem ser adicionadas ao meio, para evitar que colônias bacterianas comprometam o desenvolvimento normal dos cultivos, devido à competição por nutrientes e vitaminas no meio de cultura (Leifert; Ritchie; Waites, 1991).

A fim de reduzir a contaminação bacteriana em cultivos *in vitro*, diversas pesquisas têm explorado o uso de antibióticos. Nesse contexto, Pereira e Fortes (2003) constataram que a ampicilina, o cloranfenicol, a estreptomina e a tetraciclina, quando adicionados ao meio de cultura em concentrações de 32 a 256 mg/L, inibem o crescimento de bactérias contaminantes em culturas de tecido de batata (*Solanum tuberosum* L.). Araújo *et al.* (2012) testou a adição de três antibióticos ao meio de cultura (eritromicina, ampicilina e cloranfenicol), em diferentes dosagens (100, 200, 300 e 600 mg/L), onde obtiveram resultados positivos no controle da contaminação bacteriana, em segmentos caulinares de camu-camu.

O modo de ação dos antibióticos, podem ser divididos em grupos com base no mecanismo de atividade antimicrobiana. Os principais grupos são os

agentes que inibem a síntese da parede celular (β -lactâmicos, como as penicilinas) despolarizam a membrana celular (Lipopeptídeos), inibem a síntese de proteínas (Aminoglicosídeos), inibem a síntese de ácidos nucleicos (Fluoroquinolonas) e inibem as vias metabólicas das bactérias (Trimetoprima) (Reygaert, 2018).

O modo de ação bactericida, do grupo das penicilinas (ampicilina), atuam degradando a parede celular da bactéria (Sanar, 2021). Essa ação bactericida a torna eficaz no controle de contaminações bacterianas.

Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito de diferentes concentrações de ampicilina no meio de cultura para a produção de mudas de dália. A hipótese do estudo foi de que o uso da ampicilina asseguraria o controle bacteriano, sem comprometer a germinação das sementes de Dália.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito de diferentes concentrações de ampicilina no controle da contaminação bacteriana durante a germinação *in vitro* de sementes de Dália (*Dahlia pinnata*).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a influência de diferentes concentrações de ampicilina para o controle do desenvolvimento de bactérias em meio nutritivo para germinação *in vitro* de dália;
- Determinar o percentual de germinação das sementes aos sete e 14 dias após a inoculação das sementes no meio nutritivo;
- Determinar o índice de velocidade de germinação das sementes aos sete e 14 dias após a inoculação das sementes no meio nutritivo;
- Determinar o número de sementes contaminadas por bactérias aos sete e 14 dias após a inoculação das sementes no meio nutritivo;
- Determinar o número de sementes contaminadas por fungos aos sete e 14 dias após a inoculação das sementes no meio nutritivo;
- Determinar a concentração ideal de antibiótico para o controle de contaminação por bactérias, assim como proporcionar o maior estabelecimento de plântulas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, localizado no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia (IFRO) *Campus* Colorado do Oeste, com sementes de Dália (*Dahlia pinnata*). As sementes utilizadas pertenciam ao lote 0024402330023010, possuíam 99,4% de pureza, apresentavam uma taxa de germinação de 60% e validade até março de 2026 conforme informações do fabricante. Além disso, as sementes foram adquiridas já tratadas, conforme previsto na legislação do RENASEM (Registro Nacional de Sementes e Mudas).

O experimento foi composto por quatro tratamentos com diferentes concentrações de ampicilina: 0 mg/L de ampicilina (Testemunha), 150 mg/L de ampicilina (T1), 200 mg/L de ampicilina (T2), 250 mg/L de ampicilina (T3). Em cada tratamento havia 10 repetições, sendo utilizadas três sementes em cada repetição, totalizando 40 unidades experimentais (Tabela 2). As condições experimentais foram as mesmas para todos os tratamentos e a distribuição das unidades foi realizada de forma aleatória, com o objetivo de avaliar o efeito das diferentes concentrações de ampicilina em comparação ao tratamento (controle). Desta forma, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado.

Tabela 2 – Tratamentos com diferentes concentrações de ampicilina .

Tratamento	Concentração (mg/L)	Repetições
T0	0	10
T1	150	10
T2	200	10
T3	250	10

Fonte: Elaborado pela autora.

O meio de cultura utilizado foi o meio MS (Murashige; Skoog, 1962), com redução de 50% da concentração dos sais, suplementados com 20,0 mg/L de sacarose, solidificados com 7g/L de Ágar e com presença de 1g/L de carvão ativado. Após a homogeneização dos materiais o pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8. Ao total, foram preparados 1,8 litros de meio de cultura, sendo 400 ml para cada tratamento. Em seguida, o meio de cultura foi distribuído em quatro frascos de vidro, para facilitar a mistura das doses de antibióticos na câmara de fluxo laminar, uma vez que o mesmo não pode ser autoclavado, por se tratarem de substâncias

termolábeis, que se decompõem com o calor (Carvalho, 1999). Em seguida os frascos de vidro foram autoclavados a 120 °C e 1 atm por 20 minutos.

As doses de antibióticos foram pesadas em balanças analíticas e posteriormente, adicionadas aos frascos de vidro de cada tratamento, já no ambiente da câmara de fluxo laminar, para evitar contaminações do meio de cultura com o ambiente externo.

Após o processo de homogeneização, o meio de cultura foi distribuído em potes de plástico com capacidade de 145 ml, utilizando-se 40 ml do meio em cada unidade.

As sementes de dália seguiram o protocolo de desinfecção, sendo submetidas a álcool 70% por 30 segundos, seguidas de imersão em uma solução de hipoclorito de sódio comercial (NaOCl 2%) diluído a 20% (v/v) com agitação contínua por 20 minutos (Alves, 2017, p. 7). Em seguida, foram transferidas para a câmara de fluxo laminar, onde foram lavadas três vezes consecutivas com água destilada autoclavada. Posteriormente, as sementes foram inoculadas nos potes de plástico, que continham tampas. Tanto os potes, quanto os utensílios utilizados para inoculação das sementes, foram autoclavados um dia antes, a 120 °C na pressão de 1 atm por 20 minutos, antes de serem usados, para evitar a contaminação de fungos e bactérias, presentes nesses materiais.

Após a inoculação das sementes os potes foram cobertos pelo plástico filme PVC, e direcionados para uma câmara de Demanda Bioquímica de Oxigênio (BOD), com luz por 14 dias, num ambiente controlado, tendo um fotoperíodo de 16/8 horas (16 horas de luz/8 horas de escuro) e temperatura de 25 ± 2 °C.

Os índices de contaminação, foram avaliados por meio de análises visuais e registros fotográficos, sendo classificados em uma escala de 0 a 1, na qual 0 representa as plântulas não contaminadas (sadias) e 1 as plântulas contaminadas por fungos e/ou bactérias (não sadias). Foram classificados como 0, plântulas não contaminadas, que possuíam radículas e demonstravam capacidade de originar uma plântula normal. Já as plântulas classificadas na escala 1, apresentavam uma contaminação visível a olho nu, caracterizada pela presença de fungos, identificados por hifas, e bactérias, evidenciadas por colônias bacterianas.

As avaliações de contaminação foram realizadas aos sete e 14 dias após a instalação do experimento, em ambos os tratamentos, para verificar a influência das concentrações de ampicilina no controle do desenvolvimento de bactérias.

A partir dos dados obtidos, avaliou-se o percentual (%) de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG). A germinação foi determinada através da contagem de sementes germinadas aos sete e 14 dias após a inoculação, sendo expressa em porcentagem, considerando-se germinadas as sementes que apresentaram radícula. O índice de velocidade de germinação (IVG) foi determinado a partir da soma do número de plântulas normais emergidas aos sete e 14 dias, dividido pelo número de dias transcorridos após a inoculação, correspondendo ao número de sementes germinadas ao longo do tempo. Ambas as avaliações foram realizadas, com o objetivo de analisar a concentração ideal de antibiótico (ampicilina), visando determinar a concentração que não exerce influência negativa no desenvolvimento das plântulas.

Os dados obtidos ao final das avaliações foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. No entanto, mesmo após transformações como raiz quadrada, raiz cúbica e logaritmo, os dados não apresentaram distribuição normal, o que inviabilizou a aplicação do teste de médias pelo teste de Tukey. Dessa forma, a qualidade do ajuste do modelo estatístico foi avaliada por meio do coeficiente de determinação (R^2).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações de antibióticos testadas neste trabalho proporcionaram redução de contaminação bacteriana, porém as sementes utilizadas para inoculação, possuem tratamento de fábrica, logo não houve infecção de patógenos de forma expressiva (Tabelas 3 e 4). Tal argumento pode ser defendido com base no cadastro da empresa comercializadora das sementes, no RENASEM nº RS-00013/2005. Empresas inscritas no RENASEM devem adotar 'boas práticas', conforme estabelecido no Decreto nº 10.586, de 18 de dezembro de 2020, que regulamenta a Lei nº 10.711, de 5 de agosto de 2003, que dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudas:

Art. 3º, inciso V, define "boas práticas como o conjunto de princípios, de diretrizes, de normas, de procedimentos e de recomendações que devem ser adotados pelas pessoas físicas ou jurídicas inscritas ou credenciadas no Renasem na execução das atividades previstas no SNSM, incluídos sistemas de gestão de qualidade" (Brasil, 2020).

Uma das atividades de boas práticas que a entidade comercializadora de sementes, cadastrada no RENASEM, deve adotar é a venda de sementes viáveis e livres de patógenos. Para evitar tais contaminações, o Decreto nº 10.586/2020, estabelece em seu Art. 43 que "o tratamento e o revestimento de sementes, inclusive daquelas destinadas à exportação, serão disciplinados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento" (Brasil, 2020). Tais decretos garantem que as sementes comercializadas sejam viáveis, livres de patógenos e seguras para o uso agrícola, reduzindo riscos fitossanitários.

Além da contaminação bacteriana, houve contaminações fúngicas, uma vez que não foi adotado nenhum método de controle neste trabalho.

Tabela 3 – Contabilização da germinação e contaminação por fungos e bactérias das sementes de dália, submetidas a diferentes concentrações de ampicilina aos 7 dias após a inoculação.

Tratamento	Germinação	Contaminação por bactéria	Contaminação por fungo
T0	5	2	10
T1	3	0	9
T2	1	0	9
T3	3	0	9
Máximo	5	2	10
Mínimo	1	0	9
Média	3	0,5	9,25

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 4 – Contabilização da germinação e contaminação por fungos e bactérias das sementes de dália, submetidas a diferentes concentrações de ampicilina aos 14 dias após a inoculação.

Tratamento	Germinação	Contaminação por bactéria	Contaminação por fungo
T0	6	2	10
T1	4	1	10
T2	1	1	10
T3	3	1	9
Máximo	6	2	10
Mínimo	1	1	9
Média	3,5	1,25	9,75

Fonte: Elaborado pela autora.

Observa-se que o tratamento T0 (sem adição de ampicilina), por não conter ampicilina, apresentou o maior número de plantas germinadas entre todos os tratamentos, com uma máxima de 6 plantas germinadas, sugerindo que a presença do antibiótico nos demais tratamentos (T1, T2 e T3) tenha ocasionado algum nível de fitotoxicidade. Dessa forma, apesar de os tratamentos T1 (150 mg/L), T2 (200 mg/L) e T3 (250 mg/L) terem apresentado menor contaminação bacteriana, a redução na germinação sugere que a ampicilina ou suas concentrações podem interferir em processos fisiológicos essenciais ao desenvolvimento inicial das sementes.

A maior taxa de contaminação bacteriana foi observada no tratamento T0 (sem adição de ampicilina), com 20% de contaminação. Este valor representou o dobro da contaminação observada nos tratamentos T1 (150 mg/L), T2 (200 mg/L) e T3 (250 mg/L), nos quais os percentuais de contaminação se mantiveram em torno de 10% (Tabela 4).

O percentual de germinação e conseqüentemente o IVG das sementes foi influenciado pelas concentrações de antibiótico no meio de cultura. Observou-se uma redução do percentual de germinação à medida que a concentração do antibiótico aumentava, tanto aos 7 quanto aos 14 dias após a inoculação (Figura 3). Esse resultado sugere que a presença do antibiótico compromete tanto a velocidade quanto a germinação das sementes.

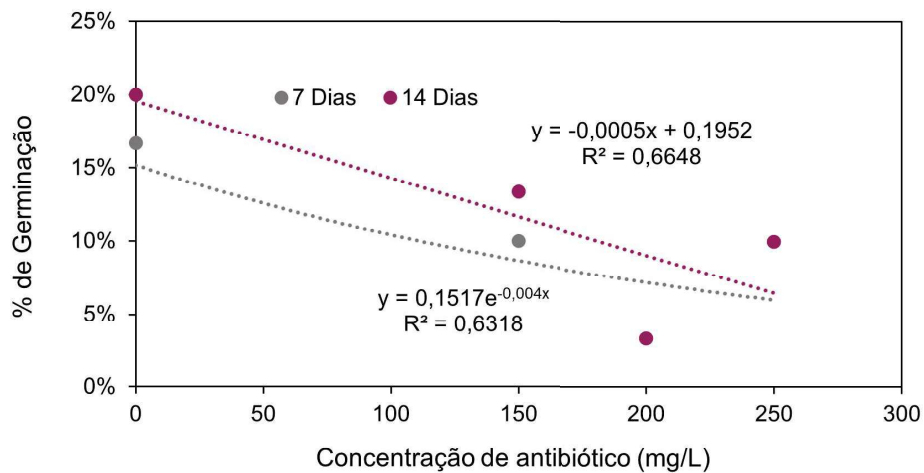


Figura 3 – Porcentagem de germinação de sementes de Dália (*Dahlia pinnata*) aos 7 e 14 dias após inoculação.

Em relação ao IVG, nos menores níveis de antibiótico, o mesmo manteve-se relativamente elevado, mas, com o aumento da concentração, ocorreu uma queda progressiva, evidenciando o efeito fitotóxico da substância sobre a germinação no meio de cultura (Figura 4).

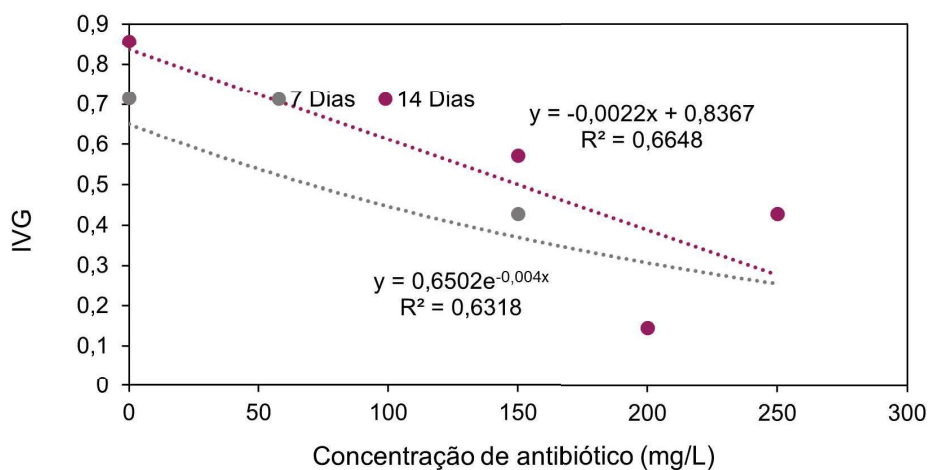


Figura 4 – Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de Dália (*Dahlia pinnata*) aos 7 e 14 dias após inoculação.

Os modelos de regressão ajustados demonstraram que a concentração de antibiótico explica uma parte significativa da variação no IVG. Aos sete dias, observou-se uma tendência de redução exponencial ($R^2 = 0,63$), enquanto aos 14 dias, a redução foi linear ($R^2 = 0,66$).

Índices baixos de germinação podem ser explicados pela fitotoxidez causadas pelas concentrações do antibiótico adicionados ao meio de cultura. De

acordo com Palú *et al.* (2011), a adição de antibióticos em altas concentrações ao meio nutritivo pode ser um fator limitante, impactando negativamente o desenvolvimento dos explantes. Cid e Teixeira (2017) relatam que antibióticos, como os do grupo das β -lactâmicos, podem inibir diversos processos dentro das bactérias (síntese da parede celular, replicação do DNA, síntese de proteína) e como a nível molecular estes processos são parecidos com os da célula vegetal, (Malajovich, 2016; Palú *et al.*, 2011), logo, é necessário atentar-se à fitotoxicidade, influenciada pela concentração.

No presente estudo, as concentrações de antibióticos usadas nos tratamentos T1 (150 mg/L), T2 (200 mg/L) e T3 (250 mg/L) induziram danos nos explantes inoculados, resultando na inibição do seu crescimento. Souza e Serejo (2007) ao avaliar o efeito de cinco antibióticos: ampicilina, ceftriaxona sódica, sulfato de amicacina, sulfato de gentamicina e rifamicina, em explantes de *Heliconia rostrata*, observaram níveis de fitotoxicidade variando de 10% a 50% nas concentrações de 100, 200, 300 e 400 mg/L, com o antibiótico ampicilina. No trabalho realizado por Santos (2017), ao utilizar o antibiótico amoxicilina no meio de cultura para germinação de sementes de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*), os dados apresentaram um maior índice de velocidade de germinação (IVG) quando o antibiótico estava ausente no meio de cultura, indicando o comprometimento da germinação devido a fitotoxicidade causada pelo uso do antibiótico. Silva *et al.* (2003), ao avaliarem os efeitos da ampicilina, cloranfenicol, minomicina, penicilina G, penicilina V, rifampicina e estreptomicina em diferentes concentrações 0, 5, 10, 25, 50 e 100 mg/L no meio de cultura, utilizado para inoculação de explantes de crisântemo e tabaco, observaram efeitos fitotóxicos expressivos. Entre os principais impactos, destacaram-se a diminuição na sobrevivência dos explantes, redução da biomassa, má formação das raízes e inibição da formação de brotos.

5 CONCLUSÕES

1. O tratamento T0 (sem adição de ampicilina), apresentou a maior taxa de germinação das sementes de (*Dahlia pinnata*), logo pode ser considerada uma alternativa viável para a germinação *in vitro* das sementes tratadas de fábricas.

2. A adição de ampicilina no meio de cultura nas concentrações de 100, 200 e 250 mg/L, interfere na germinação das sementes de Dália (*Dahlia pinnata*), sugerindo possível efeito fitotóxico.

3. A persistência de contaminação fúngica em todos os tratamentos indica a necessidade de métodos complementares para controle de fungos, uma vez que a ampicilina não atua contra eles.

REFERÊNCIAS

- ALVES, B. L. N. **Germinação e viabilidade de propagação por segmentos foliares de petúnia (*Petunia x hybrida*)**. 2017. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia). Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba. Areia, 2017.
- ANDRADE, S. R. M. de. **Princípios da cultura de tecidos vegetais**. Documentos/Embrapa Cerrados. Planaltina, GO: Embrapa Cerrados, 2002. 16 p.
- ARAÚJO, M. da C. da R. *et al.* Uso de antibióticos no controle da contaminação in vitro de segmentos caulinares de camu-camuzeiro. In: **Congresso Brasileiro de Fruticultura**, Bento Gonçalves, 2012. p. 4. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/951732>>. Acesso em: 11 mar. 2025.
- BLANCK, M. de F. A. *et al.* Germinação *in vitro* de sementes e aclimação de mudas de Macambira (*Bromelia laciniosa* Martius ex Schultes f.). **Revista de Ciências Agrárias**, Amazônia, v. 56, n. p. 68-71, dez. 2013.
- BRASIL. Decreto nº 10.586, de 18 de dezembro de 2020. Regulamenta a Lei nº 10.711, de 5 de agosto de 2003, que dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudas. Disponível em: <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2019-2022/2020/decreto/D10586.htm>. Acesso em: 28 mar. 2025.
- CARVALHO, J. M. F. C. **Técnicas de Micropropagação**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 1999. 39 p.
- CEPEA - Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada e IBRAFLOR - Instituto Brasileiro de Floricultura. **Cadeia de Flores e Plantas Ornamentais brasileira – PIB e Empregos 2017-2022**. 2023. Disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-da-cadeia-de-flores-e-plantas-ornamentais.a.spx>>. Acesso em: 10 mar. 2025.
- CID, L. P. B.; TEIXEIRA J. B. **Fisiologia vegetal: definições e conceitos**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2017. 65 p.
- FERREIRA, W. de M. *et al.* Asymbiotic germination, multiplication and development of *Alatiglossum fuscopetalum* (Orchidaceae) as affected by culture medium, sucrose and growth regulators. **Iheringia, Série Botânica**, Porto Alegre, v. 72, n. 1, p. 57-65, abr. 2017.
- IBRAFLOR - Instituto Brasileiro de Floricultura. **Dados Gerais Ibraflor 2023**. 2023. Disponível em: <<https://www.ibraflor.com.br/n%C3%BAmeros-do-setor-c%C3%B3pia>>. Acesso em: 09 mar. 2025.
- LEIFERT, C.; RITCHIE J. Y.; WAITES, W. M. Contaminants of plant-tissue and cell

cultures. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 7, n. 4, p. 452-469, 1991.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation of seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, jan. 1962.

MALAJOVICH, M. A. **Biotecnologia**. Rio de Janeiro: Axcel Books do Brasil Editora, 2016. 312 p.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Mapa divulga lista de flores e plantas ornamentais introduzidas no Brasil**. 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/mapa-divulga-lista-de-flores-e-plantas-ornamentais-existent-no-brasil>>. Acesso em: 10 mar. 2025.

MARIÑA, L. J. Revisión bibliográfica el cultivo de la dalia. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v. 36, n. 1, p. 107-115, enero/marzo. 2015.

MONFORT, L. E. F. *et al.* Micropropagação e germinação de sementes *in vitro* de atoveran. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 62, n. 2, p. 215-223, mar./abr. 2015.

MORAES, C. F. de. *et al.* Germinação *in vitro* de sementes de alcachofra. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 64-69, jan./mar. 2010.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, mar. 1962.

NEPOMUCENO, C, F. *et al.* Germinação *in vitro* de *Hyptis leucocephala* Mart. ex Benth. e *Hyptis platanifolia* Mart. ex Benth. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, Campinas, v. 16, n. 4, p. 886-895, maio. 2014.

OVANDO, M.; BOETTLER R. B. La Dahlia Una Belleza Originaria de México. **Revista Digital Universitaria**, México, v. 7, n. 11, p. 1-11, nov. 2006.

PALÚ, E. G. *et al.* Uso de antibióticos para o controle de bactérias endógenas visando à micropropagação da figueira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 2, p. 587-592, jun. 2011.

PEREIRA, J. E. S.; FORTES, G. R. de L. Toxicidade de antibióticos no cultivo *in vitro* da batata em meios semi-sólido e líquido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 11, p. 1273-1279, nov. 2003.

QUINSEN, R. C.; ANGELO, P. C. da S. **Manual de procedimentos do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2008. 44 p.

REYGAERT, W. C. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. **AIMS microbiology**, Estados Unidos, v. 4, n. 3, p. 482-501, jun. 2018.

SANAR. **Farmacologia dos Antibacterianos**. 2021. Disponível em: <<https://sanarmed.com/farmacologia-dos-antibacterianos-colunistas/>>. Acesso em: 11 mar. 2025.

SANTOS, S. K. dos. **Ação de antibiótico na germinação e microenxertia *in vitro* de *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) berg.** 2017. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia). Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2017.

SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Flores e plantas ornamentais do Brasil**. Série Estudos Mercadológicos, v.1. Brasília, DF: SEBRAE, 2015. 44 p.

SILVA, J. A. T. da *et al.* The effect of antibiotics on the *in vitro* growth response of chrysanthemum and tobacco stem transverse thin cell layers. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 97, n. 1, p. 397-410, fev. 2003.

SILVEIRA, S. S.; GOLDBACH, J. D.; QUOIRIN, M. Germinação *in vitro* de sementes e multiplicação de *Calophyllum brasiliense*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 36, n. 87, p. 185-193, jul./set. 2016.

SOUZA, E. H. de; SEREJO, J. A. dos S. Uso de antibióticos no estabelecimento de *Heliconia rostrata* a partir de gema apical. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 13, p. 733-736, set. 2007.