



VIABILIDADE E PUREZA DE ISOLADOS DE *PSEUDOMONAS* SPP. PRESERVADOS PELO MÉTODO DE CASTELLANI

COSTA, Cintia Aparecida¹; GONÇALVES, Mateus Felipe²; SOUZA, Leonardo Mendes de³; NUNES, Kayky Souza⁴; RIBEIRO, Gabriel Henrique Faria⁵; FUJINAWA, Miriam Fumiko⁶

¹ Estudante de Iniciação Científica – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Morrinhos - GO. cintia.aparecida@estudante.ifgoiano.edu.br; ² Colaborador – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde – GO. mateus.goncalves@estudante.ifgoiano.edu.br; ³ Estudante – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Morrinhos – GO. leonardo.mendes1@estudante.ifgoiano.edu.br;

⁴ Estudante – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Morrinhos – GO.

kayky.nunes1@estudante.ifgoiano.edu.br; ⁵ Estudante – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Morrinhos – GO. gabriel.ribeiro2@estudante.ifgoiano.edu.br; ⁶ Orientador – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Morrinhos - GO. miriam.fujinawa@ifgoiano.edu.br

RESUMO: A conservação de bactérias fitopatogênicas é essencial para manter culturas disponíveis à pesquisa e ao diagnóstico. Objetivou-se avaliar a viabilidade e a pureza de isolados de *Pseudomonas* spp. preservados pelo método de Castellani, em comparação à herborização de tecidos infectados e às repicagens sucessivas em ágar nutriente inclinado. Antes do armazenamento, realizaram-se testes de hipersensibilidade em fumo e de patogenicidade em tomateiro. A recuperação das culturas foi avaliada por plaqueamentos trimestrais em ágar nutriente. Os isolados conservados em água destilada estéril apresentaram crescimento após 24 horas de incubação, com manutenção da pureza. Nas repicagens sucessivas, observaram-se dessecação do meio e contaminações. O método de Castellani mostrou-se uma alternativa prática para a conservação dos isolados nas condições avaliadas, permitindo a recuperação de culturas viáveis durante o acompanhamento.

Palavras-chave: Preservação bacteriana. Água destilada. Pureza microbiológica.

INTRODUÇÃO

A disponibilidade de isolados bacterianos é necessária para a realização de experimentos e atividades de diagnóstico fitopatológico. A conservação dessas culturas deve permitir sua recuperação e a manutenção das características relevantes ao uso, considerando os recursos disponíveis no laboratório. Essa necessidade acompanha a busca por métodos acessíveis, como no estudo de Manni et al. (2026), que avaliaram uma alternativa de baixo custo para a preservação prolongada de bactérias e a manutenção de seus atributos fenotípicos.

Entre as possibilidades de conservação, o método de Castellani utiliza água destilada estéril e apresenta simplicidade operacional. Nishisaka et al. (2026) empregaram culturas recuperadas de tubos de Castellani em ensaios com fitopatógenos, demonstrando sua aplicação em pesquisas agrícolas. Entretanto, sua utilização em uma coleção exige acompanhar a viabilidade e as características dos isolados durante o armazenamento.

Assim, objetivou-se avaliar a viabilidade, a pureza e as características culturais de isolados de *Pseudomonas* spp. preservados pelo método de Castellani, em comparação à herborização de

tecidos infectados e às repicagens sucessivas em ágar nutriente inclinado.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se isolados de *Pseudomonas* spp. da coleção do Laboratório de Fitopatologia do IF Goiano – Campus Morrinhos. Após a reativação e a avaliação da pureza, realizaram-se testes de hipersensibilidade em fumo e de patogenicidade em tomateiro. Neste último, a inoculação ocorreu por infiltração foliar com seringa, utilizando suspensão bacteriana em solução salina a 0,8%.

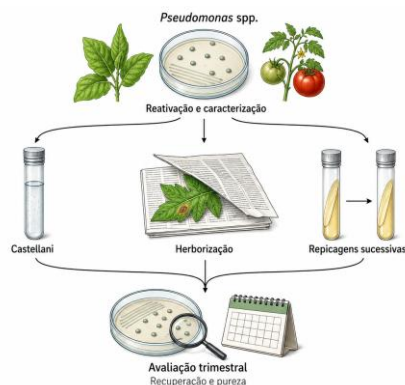


Figura 1 – Esquema ilustrativo das etapas de conservação e avaliação de isolados de *Pseudomonas* spp.

Para a conservação pelo método de Castellani, a massa bacteriana foi transferida para tubos contendo de 1 a 3 mL de água destilada autoclavada. A herborização foi realizada com tecidos foliares infectados de tomateiro, prensados entre folhas de jornal. Nas repicagens sucessivas, utilizaram-se tubos com 10 mL de ágar nutriente sólido inclinado. O acompanhamento ocorreu trimestralmente por plaqueamento por esgotamento em ágar nutriente, verificando-se a recuperação das culturas e a ocorrência de contaminações. A sequência dos procedimentos está apresentada na Figura 1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na caracterização inicial, os isolados apresentaram reação de hipersensibilidade positiva em fumo e provocaram sintomas nos tomateiros sete dias após a inoculação. Essas observações correspondem à condição das culturas antes do armazenamento.

Durante o acompanhamento, as repicagens sucessivas apresentaram dificuldades relacionadas ao dessecação do meio e à ocorrência de contaminações. A necessidade de intervenções frequentes dificultou a manutenção das culturas, representando uma limitação operacional nas condições do estudo.

Os isolados conservados pelo método foram recuperados em ágar nutriente, com crescimento após 24 horas de incubação e manutenção da pureza nas avaliações realizadas. Esse resultado indica que a conservação em água destilada estéril permitiu manter culturas recuperáveis durante o período acompanhado.

As dificuldades observadas nas repicagens devem ser interpretadas considerando o procedimento empregado. Em condições distintas, Moore e Millar (2026) recuperaram bactérias ambientais, incluindo representantes da mesma, após seis meses de conservação em placas refrigeradas. Esse estudo demonstra que a conservação em meio sólido também pode apresentar resultados satisfatórios, embora não constitua uma comparação direta com os isolados aqui avaliados. No presente trabalho, a recuperação das culturas e a pureza observada indicam o potencial do método de Castellani nas condições utilizadas.

CONCLUSÃO

O método de Castellani validou-se como o sistema mais eficiente e prático para a preservação de *Pseudomonas* spp., garantindo alta viabilidade celular e pureza das culturas com custo operacional nulo.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos pela concessão da bolsa de Iniciação Científica (PIBIC) e suporte estrutural dos laboratórios.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 42, n. 15, p. 225-226, 1939.
- MANNI, A.; AIT-OUAKRIM, E.-H.; BELKADI, B.; FILALI-MALTOUF, A. Long-term preservation of bacteria in washed sterile sand: A 14-year study. **PLOS ONE**, v. 21, n. 1, e0340501, 2026. DOI:
- MOORE, J. E.; MILLAR, B. C. A simple preservation method for the short-medium term storage of environmental bacteria. **Journal of Microbiological Methods**, v. 242, art. 107409, 2026.
- NISHISAKA, C. S.; QUEVEDO, H. D.; PELLEGRINETTI, T. A.; GODOY, F. de A.; ROSSMANN, M.; MENDES, L. W.; MENDES, R. Bacterial inoculation drives microbiome-mediated resistance to a soil-borne pathogen in wheat. **npj Biofilms and Microbiomes**, v. 12, n. 1, art. 160, 2026.