

USO DE ANTIBIÓTICOS PARA CONTROLE DE BACTÉRIA ENDÓGENA EM EXPLANTES DE MANGUEIRA (*Mangifera indica* L.)

ANDRADE, S.R.M.¹; PINTO, A.C.Q.¹; TEIXEIRA, J.B.²

¹ Embrapa Cerrados, CP 08223, 73301-970, Planaltina, DF, Brasil, solange@cpac.embrapa.br

² Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, PqEB S/N, Brasília, DF, 70770-900, batista@cenargen.embrapa.br

INTRODUÇÃO

A mangueira (*Mangifera indica* L.) é uma das frutíferas de maior área plantada no Brasil. No entanto, a produção brasileira está concentrada (75-80%) na cultivar norte-americana Tommy Atkins, cultivar produtiva com coloração do fruto agradável ao consumidor, porém apresenta sabor insípido. Além disso, seu porte vigoroso e sua susceptibilidade à malformação são características que dificultam seu cultivo. Assim, para atender às exigências do mercado é necessária a obtenção de novas cultivares com características superiores.

No entanto, devido à característica perene da cultura, a análise final dos híbridos melhorados é lenta, sendo necessários pelo menos seis anos para se ter resultados iniciais na avaliação das progênes resultantes de cruzamentos. A cultura de tecidos é uma das alternativas para acelerar e aumentar a eficiência do Programa de Melhoramento, auxiliando as diferentes etapas do mesmo. Em 2000, iniciaram-se os primeiros trabalhos para estabelecimento de protocolos de cultura de tecidos de manga na Embrapa Cerrados, com o desenvolvimento de métodos de descontaminação de estacas e folhas de mangueira.

Os resultados iniciais demonstraram que os métodos utilizados descontaminam superficialmente os explantes, no entanto após 10 dias em meio de cultivo, observa-se o crescimento de uma bactéria endógena de difícil controle. O objetivo do presente trabalho foi estudar o efeito de diferentes antibióticos no controle desta bactéria endógena.

MATERIAL E MÉTODOS

CONTROLE DA BACTÉRIA COM ANTIBIÓTICOS

As bactérias foram cultivadas em meio BDAL acrescido de antibióticos: canamicina (75 e 150 mg.L⁻¹), rifampicina (150 e 300 mg.L⁻¹), estreptomicina (150 e 300 mg.L⁻¹), tetraciclina (75 e 150 mg.L⁻¹), ampicilina (75 e 150 mg.L⁻¹), cloranfenicol (75 e 150 mg.L⁻¹), carbenicilina (75 e 150 mg.L⁻¹) e sulfametoxazol + Trimetoprima (80 + 16 e 120 + 24 mg.L⁻¹). As avaliações foram realizadas 2 dias após a inoculação nas placas.

CONTROLE DA BACTÉRIA EM MEIO MS

Explantes foram cultivados em meio MS 1/2 força ao qual foi adicionado 3 diferentes reagentes visando o controle do crescimento da bactéria:

- 1) Própolis 12%: foram 5 tratamentos (5, 10, 15, 20 e 40 gotas);
- 2) Sulfametoxazol + Trimetoprima: foram 5 tratamentos (0 + 0, 40 + 8, 80 + 16, 120 + 24 e 160 + 32 mg.L⁻¹);
- 3) Sulfato de cobre: foram 5 tratamentos (0, 2.5, 5, 12.5, 25 e 50 mg.L⁻¹).

As avaliações foram realizadas 15 dias após a inoculação dos explantes

RESULTADOS E DISCUSSÃO

CONTROLE DA BACTÉRIA COM ANTIBIÓTICOS

As avaliações demonstraram que a bactéria é gram positiva e resistente a todos antibióticos testados (Figura 1), exceto ao complexo sulfametoxazol + trimetoprima.

Novas avaliações serão realizadas para determinar qual antibiótico mais efetivo sobre a bactéria o sulfametoxazol ou a trimetoprima. A associação dos dois antibióticos inibe a síntese do ácido fólico, isoladamente têm efeito bacteriostático, no entanto, associados apresentam efeito bactericida.

Tem sido relatada na literatura o uso da rifampicina associada à trimetoprima para controle de bactérias endógenas (Albers e Kunneman, 1992; Haldeman et al., 1987; Phillips et al., 1981).

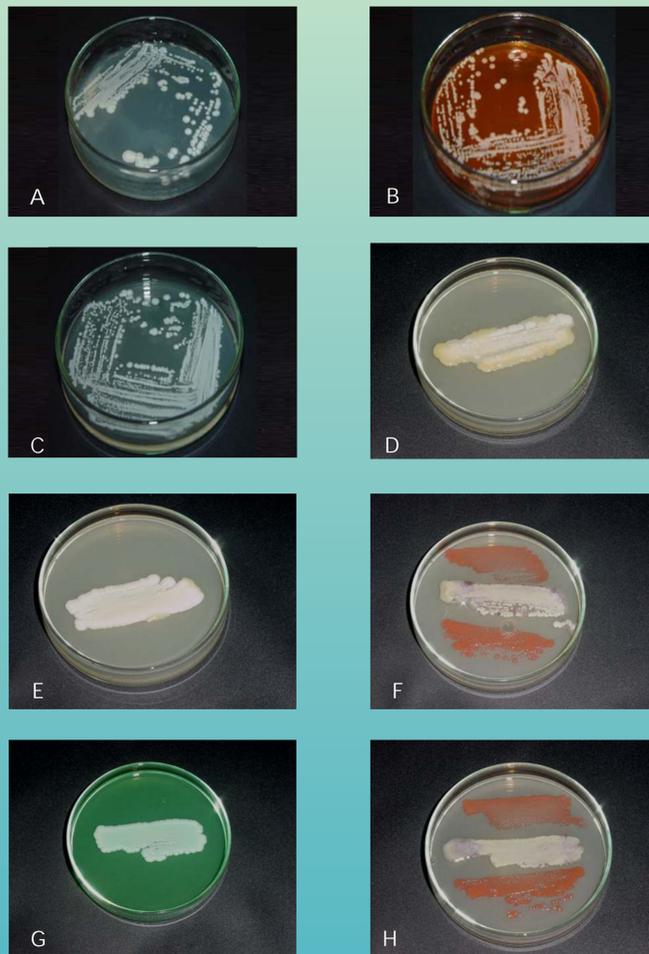


Figura 1 - Bactéria endógena detectada em experimento de descontaminação de explantes de manga crescendo em meio BDAL. A: Controle; B: Rifampicina 300 mg.L⁻¹; C: Tetraciclina 75 mg.L⁻¹; D: canamicina 150 mg.L⁻¹; E: Estreptomicina 300 mg.L⁻¹; F: Ampicilina 150 mg.L⁻¹; G: Cloranfenicol 150 mg.L⁻¹; H: Carbenicilina 150 mg.L⁻¹.

CONTROLE DA BACTÉRIA EM MEIO MS

A incorporação de sulfato de cobre e própolis ao meio nutritivo não evitou o crescimento da bactéria. No entanto, a presença do complexo antibiótico sulfametoxazol + Trimetoprima conseguiu controlar o desenvolvimento da bactéria, a partir da concentração de 80 + 16 mg.L⁻¹. No entanto, por não ser um antibiótico usado em cultura de tecidos, novos estudos estão sendo realizados para averiguar o desenvolvimento do explante na presença deste antibiótico, em diferentes concentrações do complexo antibiótico. Também serão estudados os efeitos combinados com outros antibióticos, principalmente a rifampicina.

O Sulfato de cobre foi utilizado visando controlar o crescimento desta bactéria, conforme a sugestão do Dr. Eric Mercure (2003), na qual se utilizou 2000 vezes (50 mg.L⁻¹) a concentração de sulfato de cobre sugerida para meio MS. Foram realizados 2 testes com concentrações crescentes de sulfato de cobre, variando de 100 a 2000 vezes a concentração sugerida para meio MS, e não foi observado controle da bactéria, no entanto, verificamos uma queda na contaminação por fungos, principalmente nos tratamentos de 25 e 50 mg.L⁻¹ de sulfato de cobre (Figura 2).

Esses resultados são consistentes, uma vez que sulfato de cobre é o componente ativo de vários fungicidas comerciais.

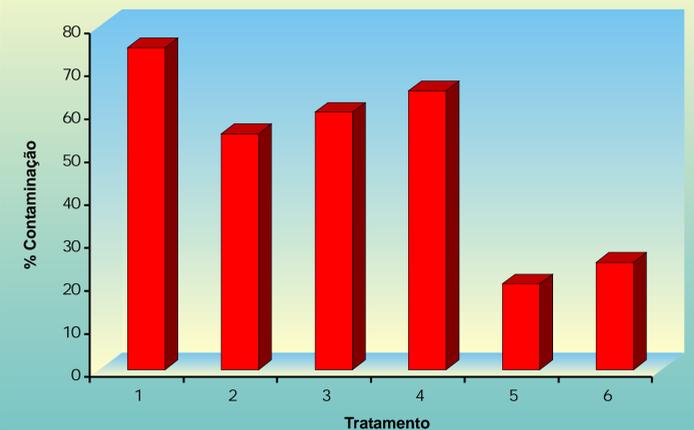


Figura 2 - Efeito concentração de sulfato de cobre no controle da contaminação endógena de fungos, cv. Alfa. Tratamento 1: sem sulfato de cobre; 2: 2,5 mg.L⁻¹ de sulfato de cobre; 3: 5 mg.L⁻¹ de sulfato de cobre; 4: 12,5 mg.L⁻¹ de sulfato de cobre; 5: 25 mg.L⁻¹ de sulfato de cobre; 6: 50 mg.L⁻¹ de sulfato de cobre. Média de duas repetições.

CONCLUSÕES

1. Complexo sulfametoxazol + Trimetoprima é eficiente no controle da bactéria endógena;
2. Sulfato de cobre em concentrações superiores a 25 mg.L⁻¹ é eficiente para o controle de fungos endógenos, no entanto é ineficiente no controle da bactéria endógena.

BIBLIOGRAFIA

ALBERS, M.J.R.; KUNNEMAN, B.P.A.M. Micropropagation of Paenia. Acta Horticulturae, The Hague, v. 314, pp. 85-92, 1992.

HALDEMAN, J.H.; THOMAS, R.L.; MCKAMY, D.L. Use of benomyl and rifampicin for in vitro shoot tip culture of Camellia sinensis and C. japonica. HortScience, Alexandria, v.22, p.306-307, 1987.

MERCURE, E. Re: fungicide or surface sterilization protocol [Lista de discussão]. Disponível em: <http://planttc.coafes.umn.edu/listserv/2003/log0303/msg00050.html> Acesso em: 25 de agosto de 2003.

PHILLIPS, R.; ARNOTT, S.M.; KAPLAN, S.E. Antibiotics in plant tissue culture: rifampicin effectively controls bacterial contamination without affecting the growth of short-term explant cultures of Helianthus tuberosus. Plant Science Letters, Amsterdam, v. 21, p. 235-240, 1981.