

USO DE ANTIBIÓTICOS ALTERNATIVOS PARA CONTROLE DE BACTÉRIAS ENDÓGENAS VISANDO A MICROPROPAGAÇÃO DA MANGUEIRA

Solange Rocha Monteiro de Andrade¹, João Batista Teixeira², Alberto Carlos de Queiroz Pinto¹, Nilton Tadeu Junqueira¹, Fábio Gelape Faleiro¹, Victor Hugo Vargas Ramos¹

⁽¹⁾ Pesquisadores, Embrapa Cerrados, km 18 da BR 020 C.P. 08223, 73310-970 Planaltina-DF

⁽²⁾ Pesquisador, Embrapa Recurso Genético e Biotecnologia

e-mail: solange@cpac.embrapa.br

Introdução

A cultura de tecidos é uma das alternativas para acelerar e aumentar a eficiência de um Programa de Melhoramento, podendo auxiliar 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. Foi desenvolvido um protocolo de descontaminação de explantes, utilizando hipoclorito de sódio 1%, álcool 70%, Benlate 500 mg.L⁻¹. Esse protocolo é bastante eficiente para descontaminação superficial de explantes provenientes de campos experimentais, no entanto após 10 dias em meio de cultivo, observa-se o crescimento de uma bactéria endógena gram positiva, de crescimento altamente agressivo em meio de cultura. Visando controlar o crescimento da bactéria foi avaliada a eficiência dos seguintes antibióticos rifampicina, canamicina, ampicilina, tetraciclina, cloranfenicol, carbenicilina, estreptomina e sulfato de cobre. Entretanto a bactéria demonstrou ser resistente a todos eles. No entanto o sulfato de cobre nas concentrações 25 e 50 mg.L⁻¹ foi bastante eficiente para controlar a presença de fungos endógenos.

O objetivo deste trabalho foi estudar antibióticos alternativos. Os explantes, coletados do campo experimental da Embrapa Cerrados (Figura 1A), foram submetidos a tratamentos com própolis bruta, extrato de própolis ou ao complexo antibiótico de sulfametaxazol+ trimetoprima.



Figura 1. Visualização do Campo Experimental: A) Delineamento de Quadrado Latino; B) Cultivar Alfa

Material e métodos

Controle em Meio AB

As bactérias foram inoculadas em meio AB contendo própolis. Foi utilizada própolis bruta e extrato de própolis 11%. A própolis bruta foi seca em estufa 70°C por 72 horas, moída e acrescentada ao meio antes de autoclavar. O extrato de própolis comercial a 11% em álcool foi acrescentado ao meio após a autoclavagem. Os tratamentos foram os seguintes:

- Controle 1 (sem antibióticos);
- Controle 2 (80 mg.L⁻¹ Sulfametoxazol + 16 mg.L⁻¹ Trimetoprima);
- Própolis 0,1% p/v;
- Própolis 0,5% p/v;
- Própolis 1% p/v;
- Própolis 0,1% v/v;
- Própolis 0,5% v/v;
- Própolis 1% v/v.

Controle da bactéria em meio MS

Os explantes foram coletados no campo experimental, cultivar Alfa (Figura 1B), da Embrapa Cerrados, submetidos a desinfecção superficial e inoculados em meio MS 1/2 força contendo antibióticos nas seguintes concentrações:

- Controle (sem antibiótico)
- 80 mg.L⁻¹ Sulfametoxazol + 16 mg.L⁻¹ Trimetoprima
- 80 mg.L⁻¹ Sulfametoxazol
- 16 mg.L⁻¹ Trimetoprima

Resultados e discussão

O extrato de própolis foi eficiente no controle do crescimento da bactéria nas concentrações 0,5 e 1% (Figura 2). No entanto, a bactéria se desenvolveu em todas as concentrações testadas nos meios contendo própolis bruta (Figura 2). Bianchini e Bedendo (1998) estudando o efeito da própolis em diversas espécies de bactéria verificaram que a inclusão de extrato aquoso de própolis antes ou após a autoclavagem não afetava o resultado final. Os autores sugerem o uso de própolis para controle de bactérias fitopatogênicas, entretanto não foram encontradas referências sobre o uso da própolis em cultura de tecidos. A própolis tem sido utilizada de maneira eficiente no controle de diversas espécies microbianas como *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus* e *Mycobacterium* (Grangey e Davey, 1990).

O sulfametoxazol e complexo antibiótico sulfametoxazol+ trimetoprima foram eficientes no controle do desenvolvimento da bactéria em meio MS (Figura 3). O sulfametoxazol e a trimetoprima atuam inibindo a biossíntese do ácido fólico em bactérias, apresentando efeito bacteriostático quando utilizados separadamente, e efeito bactericida quando combinados. Entretanto, existem poucos relatos do uso de trimetoprima em cultura de tecidos (Tiwari et al. 1998; Tiwari et al. 2000) e nenhum relato do uso de sulfametaxazol. Assim, a utilização desses antibióticos em cultura de tecidos precisa ser estudada com mais profundidade, pois pode afetar a síntese do ácido fólico em plantas, principalmente em altas concentrações (Dr. Edwin Cossins, informação pessoal).

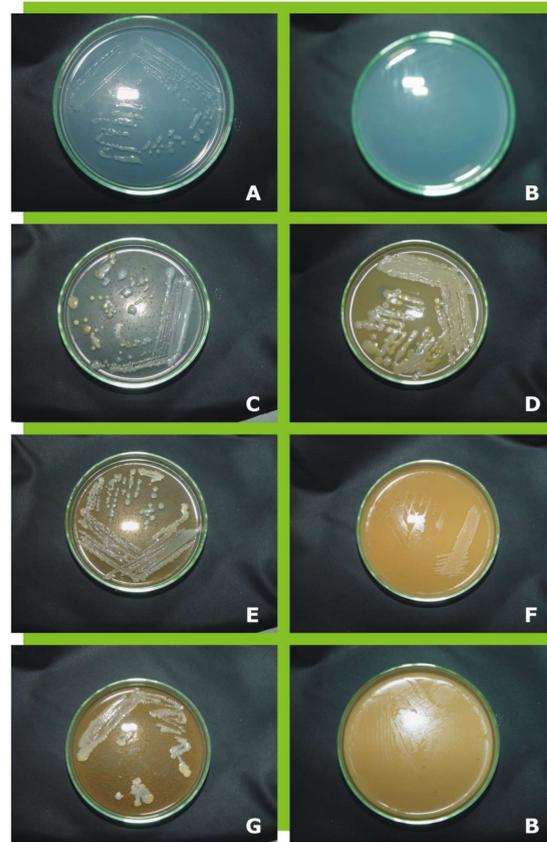


Figura 2. Bactéria testada em relação aos seguintes antibióticos: A) Controle; B) Sulfametoxazol + Trimetoprima; C) 0,1% própolis (p/v); D) 0,1% própolis (v/v); E) 0,5% própolis (p/v); F) 0,5% própolis (v/v); G) 1% própolis (p/v); H) 1% própolis (v/v).



Figura 3. Bactérias desenvolvendo em meio MS contendo os seguintes antibióticos: A) Controle; B) Sulfametaxazol + Trimetoprima; C) Trimetoprima; D) Sulfametaxol.

Conclusão

O própolis e o sulfametoxazol são eficientes para o controle do crescimento da bactéria endógena. Entretanto, novos estudos são necessários para determinar a melhor concentração de utilização, bem como o efeito sobre o desenvolvimento do explante em meio de cultura.

Referências bibliográficas

- BIANCHINI, L.; BEDENDO, I.P. Efeito antibiótico do própolis sobre bactérias fitopatogênicas. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, v.55, p. 149-152, 1998.
- GRANGE, J.M.; DARVEY, R.W. Antibacterial properties of própolis. *Journal of the Royal Society of Medicine*, v.38, p.159-160, 1990.
- TIWARI, V.; SINGH, B.D.; TIWARI, K.N. Shoot regeneration and somatic embryogenesis from different explants of Brahmi. [*Bacopa monniera* (L.) Weetst.]. *Plant Cell Reports*, v.17, p. 538-543, 1998.
- TIWARI, K.N.; SHARMA, N.C.; TIWARI, V. SINGH, B.D. Micropropagation of *Centella asiatica* (L.), a valuable medicinal herb. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 63, p.179-185, 2000.