



USO DE ANTIBIÓTICOS NO CONTROLE DA CONTAMINAÇÃO *IN VITRO* DE SEGMENTOS CAULINARES DE CAMU-CAMUZEIRO¹

MARIA DA CONCEIÇÃO DA ROCHA ARAÚJO²; ALBERTO MOURA DE CASTRO³;
EDVAN ALVES CHAGAS⁴; MARCELA LIEGE DA SILVA²; MARCIO AKIRA COUCEIRO³;
PATRÍCIA SILVA FLORES⁵

INTRODUÇÃO

O camu-camu ou caçari (*Myrciaria dubia* (H.B.K) Mc.Vaugh) é um arbusto de pequeno porte pertencente à família Myrtaceae (ZANATTA, 2004), seu potencial econômico reside no fruto, pois é considerado a maior fonte natural conhecida de vitamina C chegando atingir 6.112 mg/100 g de polpa, despertando grande interesse comercial tanto por parte dos produtores como dos consumidores (YUYAMA et al., 2002).

Diversos trabalhos têm sido realizados objetivando a multiplicação vegetativa do camu-camuzeiro, visando maior produtividade, uniformidade de produção, precocidade na frutificação, e fixação das características desejáveis da planta-mãe (YUYAMA et al., 2010).

A micropropagação é uma técnica promissora na multiplicação do camu-camuzeiro, pois permite a obtenção de mudas de qualidade fitossanitária e em grande escala, mantendo as características desejáveis da planta mãe.

Porém, na fase inicial da micropropagação, os contaminantes, especialmente as bactérias endógenas, impõem consideráveis limitações para o estabelecimento da cultura *in vitro*. Muitos tipos de antibióticos são utilizados na cultura de tecidos de plantas, para prevenir ou eliminar bactérias no cultivo *in vitro* (HOLFORD; NEWBURY, 1992; MAMIDALA; NANNA, 2009).

Portanto, com o presente estudo, objetivou-se avaliar diferentes doses de antibióticos adicionados ao meio de cultura do controle da contaminação bacteriana *in vitro* de segmentos caulinares de camu-camuzeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Apoio financeiro da CAPES, CNPq e FEMARH

¹ Parte da Dissertação do primeiro Autor. POSAGRO/UFRR

² Doutoranda em Biodiversidade e conservação - Rede Bionorte - RR Email: nilmacoly@hotmail.com* (autor para correspondência); marcelaliege@yahoo.com.br.

³ Eng. Agr., Professor POSAGRO/UFRR. Email: albertomouradecastro@ig.com.br; biofabrica@ufr.br .

⁴ Pesquisador Embrapa Roraima. E-mail: echagas@cpafrr.embrapa.br.

⁵ Pesquisadora Embrapa Acre. E-mail: patricia.flores@cpafac.embrapa.br.

Foram testados três antibióticos (eritromicina, ampicilina e cloranfenicol), em diferentes dosagens (100, 200, 300 e 600 mg.L⁻¹) adicionados ao meio de cultura WPM. Após a autoclavagem, o meio de cultura foi resfriado à temperatura de 40 °C e transferidos para câmara de fluxo laminar para a adição dos antibióticos.

Segmentos caulinares de camu-camu medindo cerca de 2 cm, coletados de plantas mantidas em casa de vegetação da Embrapa Roraima foram utilizados como explantes. Em câmara de fluxo laminar, os explantes foram imersos em álcool 70% por 1 minuto, seguido de imersão em hipoclorito de sódio a 1,5%, por 20 minutos. Os explantes foram inseridos nos tubos de ensaio contendo os diferentes meios e transferidos para sala de crescimento a 25 °C ± 1 °C e fotoperíodo de 16 horas de luz, à irradiância de 32 μmol m⁻² s⁻¹. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 4, com seis repetições, sendo cada repetição composta por cinco tubos de ensaio contendo um explante cada. Foram avaliadas a descontaminação bacteriana e de sobrevivência dos explantes aos 7, 14, 21 e 30 dias. As análises foram realizadas pelo programa computacional Sistema para Análise de Variância - SISVAR (FERREIRA, 2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados, observou-se que a eficiência dos antibióticos utilizados foi dependente da concentração utilizada, sendo que os melhores resultados, 100% de controle da contaminação, foram obtidos com a adição do antibiótico cloranfenicol ao meio de cultura (Figura 1A).

A medida que adicionou-se cloranfenicol ao meio de cultura fez reduzir a contaminação até a dose de 200 mg.L⁻¹, a partir da qual todas as doses resultaram no controle total da contaminação. Porém observou-se maiores porcentagem de explantes oxidados, a medida que aumentou a concentração de antibiótico. O uso de ampicilina também foi eficiente no controle da ocorrência de contaminação bacteriana, em todas as doses testadas, sendo que na concentração de 600 mg. L⁻¹ observou-se controle total da contaminação. No entanto, considerando-se que no tratamento em que foi utilizado 100 mg. L⁻¹ de ampicilina foi observada 98% de descontaminação e elevada sobrevivência dos explantes, esta dose foi considerada a mais apropriada (Figura 1A e 1B).

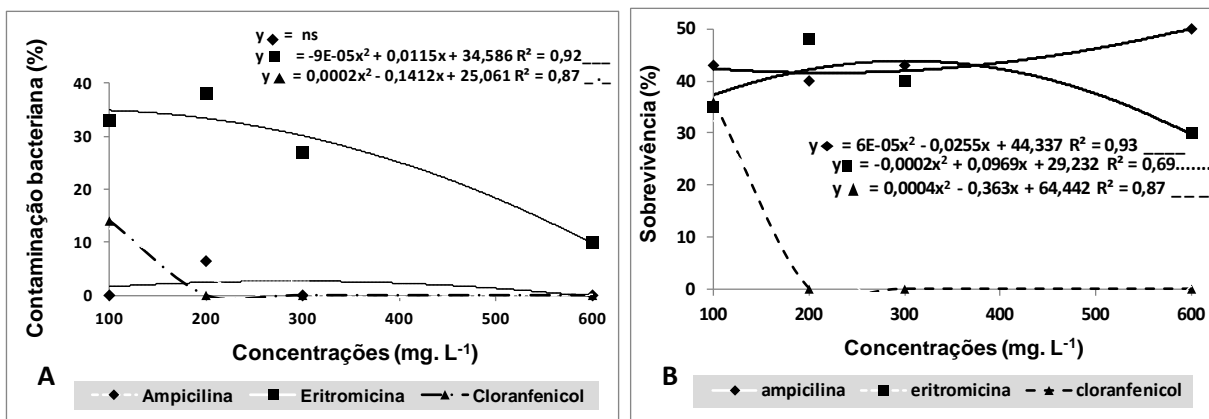


Figura 1 – Incidência de contaminação bacteriana (A) e porcentagem de sobrevivência (B) em culturas de segmentos caulinares de camu-camu após 30 dias de cultivo em meio de cultura WPM, suplementado com diferentes doses de antibióticos.

Com o uso de eritromicina foi observada a redução significativa na porcentagem da contaminação à medida que se aumentou a dosagem do antibiótico no meio de cultura. Dentre os três antibióticos testados a eritromicina apresentou-se menos efetiva no controle da contaminação bacteriana presente nos explantes de camu-camu.

Observou-se maiores porcentagens de sobrevivência dos explantes quando adicionou-se no meio de cultura o antibiótico ampicilina na dosagem de 600 mg.L⁻¹, obtendo-se 50% de sobrevivência (Figura 1B). O antibiótico eritromicina também mostrou-se eficiente na sobrevivência dos explantes de camu-camu, quando utilizado até a dose de 300 mg.L⁻¹. Dosagens maiores que 300 mg.L⁻¹ resultaram em menores as porcentagens de sobrevivência dos explantes. Para o antibiótico cloranfenicol, observou-se que as concentrações superiores a 200 mg.L⁻¹ mostraram-se fitotóxica aos explantes, ocasionando 0% de estabelecimento.

Pereira et al. (2003), testando diferentes antibióticos nos controle da contaminação *in vitro* de gemas axilares de batata (*Solanum tuberosum*), observaram que entre doze antibióticos testados, os melhores resultados foram proporcionados pelo uso da ampicilina e cloranfenicol. Resultados semelhantes aos obtidos no presente experimento, no qual ampicilina e o cloranfenicol, mostraram-se mais efetivos no controle da contaminação bacteriana *in vitro*, e verificaram que a ampicilina foi o único antibiótico que não afetou a sobrevivência e o desenvolvimento dos explantes. Por outro lado, o aumento das concentrações de cloranfenicol, resultou em efeitos fitotóxicos sobre o material vegetal.

CONCLUSÕES

A suplementação do meio de cultura com ampicilina foi eficiente no controle da contaminação bacteriana, mesmo na concentração mais baixa testada. Portanto, recomenda-se a adição deste

antibiótico ao meio de cultura para controle da contaminação *in vitro* de segmentos caulinares de camu-camuzeiro.

REFERÊNCIAS

- FERREIRA, D.F. **Sisvar 5.1** - Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2005.
- HOLFORD, P.Ç NEWBURY, H.J. The effects of antibiotics and their breakdown products on the *in vitro* growth of *Anturrrhinum manjus*. **Plant cell report**, Berlun, v11, p. 93-96, 1992.
- MAMIDALA, P.; NANNA, R. S. Efficient *in vitro* plant regeneration, flowering and fruiting dwarfff tomato c.v. micro-msk. **Plant omics journal**, Lindfield, v.2, p. 98-102, 2009.
- LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Int. Plant Prop. Soc. Proceedings**,_Washington n. 30, p. 421-427, 1980.
- PEREIRA, J.E.S.; MATTOS, M.L.T.; FORTES, G.R.L. Identificação e controle com antibióticos de bactérias endofíticas contaminantes em explantes de batata micropropagados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 7, p. 827-834, 2003. Disponível em: <www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-204X2003000700006..>. Acesso em 05 ago. 2012.
- 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. vol.38 no.11 Brasília Nov. 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2003001100004>>. Acesso em 05 ago. 2012.
- SOUZA, J.A. SCHUCH, M. W. ; SILVA, L. C. da ; SOARES, G. C. Desinfestação e estabelecimento *in vitro* de feijoa (*Acca sellowiana* (Berg) Burret) e pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). **Revista Científica Rural**, Bagé, v.11, n.1, p.39-44, 2006. Disponível em: http://www.urcamp.tche.br/rcrural/vol11_2.pdf. Acesso em: 05 ago. 2012.
- YUYAMA, K.; AGUIAR, J.P.L.; YUYAMA, L.K.O. Camu-camu: Um fruto fantástico de vitamina C. **Acta Amazônica**, Manaus- AM, v.32, n.1, p.169-174, 2002. Disponível em: <http://acta.inpa.gov.br/fasciculos/32-1/PDF/v32n1a16.pdf>. Acesso em 05 ago. 2012.
- YUYAMA, K., MENDES, N. B., VALENTE, J. P. Longevidade de sementes de camu-camu submetidas a diferentes ambientes e formas de conservação. **Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal** - SP, v. 33, n. 2, p. 601-607, Junho 2011.
- ZANATTA, C.F. **Determinação da composição de carotenóides e antocianinas de camu-camu (*Myrciaria dubia*).** Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual de CAMPINAS, 2004.