

Uso de antibióticos no estabelecimento de *Heliconia rostrata* a partir de gema apical.

Everton Hilo de Souza¹; Janay Almeida dos Santos-Serejo²

¹Graduando em Engenharia Agrônoma (UFRB), Campus Cruz das Almas, CEP 45380-000 Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3634-2543, e-mail: hilosouza@gmail.com; ²Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, s/n, CP. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8072, e-mail: janay@cnpmf.embrapa.br.

INTRODUÇÃO

As helicônias são plantas de origem neotropical, com ampla distribuição na América Central e na América do Sul. A taxa de diversidade atual sugere como o centro de origem do gênero o noroeste da América do Sul (Castro, 1995).

Originalmente incluído na família Musaceae, o gênero *Heliconia* passou a constituir a família Heliconiaceae, em função de suas características morfológicas. A acentuada procura por helicônias, principalmente por parte do mercado externo, tem colocado o cultivo desse gênero em posição de destaque, dentre as atividades desenvolvidas no ramo da floricultura, sendo muito apreciada em função da grande durabilidade, beleza e exuberância das inflorescências (Castro, 1995).

A propagação comercial de helicônias é feita normalmente por via vegetativa, através de mudas extraídas de plantas já desenvolvidas, pela divisão do rizoma, o que tem facilitado à disseminação de certos patógenos. A necessidade de uma grande quantidade de mudas para plantio tem estimulado a multiplicação de clones promissores pelo uso de técnicas de propagação *in vitro* (Rodrigues, 2006).

A grande limitação da micropropagação de *Heliconia* sp. é a alta incidência de contaminação bacteriana endofítica necessitando, assim, a adição de antibióticos ao meio de cultura. É consenso, que mesmo com antibióticos, dificilmente se consegue eliminar completamente as bactérias. Os antibióticos mais usados em cultura e tecidos vegetais possuem ação bacteriostática e não propriamente bactericida, mantendo o desenvolvimento do explante e reduzindo a multiplicação das bactérias dentro dos tecidos, de maneira que seja possível isolar explantes livres de contaminação. Para isso, o antibiótico deve manter sua capacidade bacteriostática no meio nutritivo, não ser tóxico as células vegetais e ter o mais amplo espectro possível de ação.

Segundo Torres et al. (1998), alguns antibióticos usados na cultura de tecidos como ampicilina, rifamicina, sulfato de gentamicina e cefotaxima são os mais eficientes meios de controle de bactérias e menos fitotóxicos aos explantes.

Este trabalho tem por objetivo avaliar os diferentes antibióticos no controle de bactérias endógenas no estabelecimento *in vitro* de *Heliconia rostrata* através de gema apical e lateral.

MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais vegetativos de *Heliconia rostrata* foram obtidos na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Os explantes foram reduzidos ao tamanho de 10 cm de altura por 4 cm de espessura, e imediatamente lavados em água corrente, com detergente neutro. Em câmara de fluxo laminar, os explantes passaram por um processo de redução de tamanho para 2 cm de altura por 2 cm de espessura, sendo desinfestados com etanol a 70% por 5 minutos, solução de hipoclorito de sódio a 70% e 30 gotas/L de Tween 20 durante 30 minutos e enxaguados três vezes com água destilada estéril. Após a desinfestação, os explantes foram reduzidos a 1,0 cm de altura por 0,5 cm de espessura e transferidos para o meio de cultura MS (Murashige & Skoog 1962), suplementado com 3% de sacarose, 0,8% de ágar e pH ajustado para 5,8, autoclavado a 120°C durante 20 minutos.

Para o controle de bactérias endógenas foram utilizados cinco antibióticos: ampicilina, ceftriaxona sódica, sulfato de amicacina, sulfato de gentamicina e rifamicina, com quatro diferentes concentrações (100, 200, 300 e 400 mg L⁻¹), os antibióticos foram esterilizados a frio e adicionados ao meio de cultura antes da sua solidificação. A introdução dos explantes no meio ocorreu num período inferior de 24h após a adição dos antibióticos. Após a inoculação os explantes foram mantidos, no escuro por trinta dias com temperatura de 27°C ± 1°C.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 21 tratamentos e 10 repetições. Cada repetição foi representada por um explante. As avaliações da eficácia dos produtos foram feitas durante 30 dias. As leituras para verificar a ocorrência de explantes contaminados foram realizadas a cada cinco dias, o que possibilitou determinar a percentagem e velocidade de contaminação. Na interpretação dos resultados, utilizaram-se a regressão, para determinar a velocidade de infestação, e o teste de Tukey para verificar significância entre os produtos e as concentrações usadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados sobre o controle de bactérias em explantes de helicônia mediante o uso de antibióticos podem ser observados na Figura 1. A menor taxa de contaminação bacteriana foi obtida no tratamento com 400 mg L⁻¹ de sulfato de gentamicina (40%). A fitotoxidade deste antibiótico foi relativamente baixa (20%), o que permitiu a obtenção de plantas sem contaminação (40%).

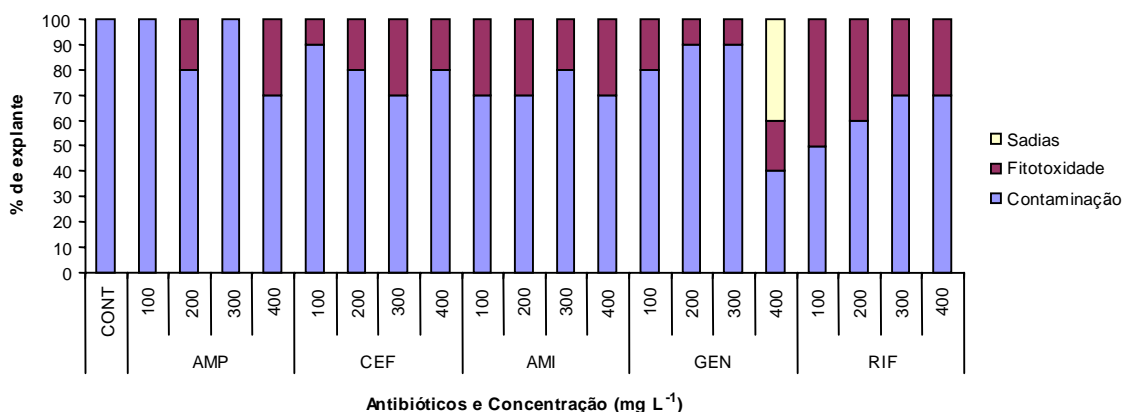


Figura 1. Percentagem de contaminação, fitotoxidade e plantas saudáveis nos diversos tipos de antibióticos e concentrações em explantes de *H. rostrata*. CONT – Controle; AMP - Ampicilina; CEF - Ceftriaxona Sódica; AMI - Sulfato de Amicacina; GEN - Sulfato de Gentamicina e RIF – Rifamicina.

Embora o antibiótico rifamicina, na concentração de 100 mg L⁻¹, tenha promovido um controle no desenvolvimento de bactérias endofíticas em 50% dos explantes, indicando uma ação eficaz sobre as bactérias, os explantes não sobreviveram devido a fitotoxidade do antibiótico na concentração utilizada (Figura 1). Vale salientar que a contaminação ocorreu nos cinco primeiros dias após a inoculação dos explantes, com um acréscimo lento e progressivo até o vigésimo dia.

As maiores velocidades de contaminação foram obtidas nos tratamentos com sulfato de amicacina e ampicilina (Figura 2), que logo após a introdução dos explantes, apresentaram contaminações e permaneceram com as mesmas taxas. Para os antibióticos cefotriaxona sódica, sulfato de gentamicina e rifamicina, observou-se que a velocidade de infestação foi mais rápida até o 15º dia, ocorrendo, a partir deste período, uma estabilidade da infestação patogênica até o final das observações (Figuras 2).

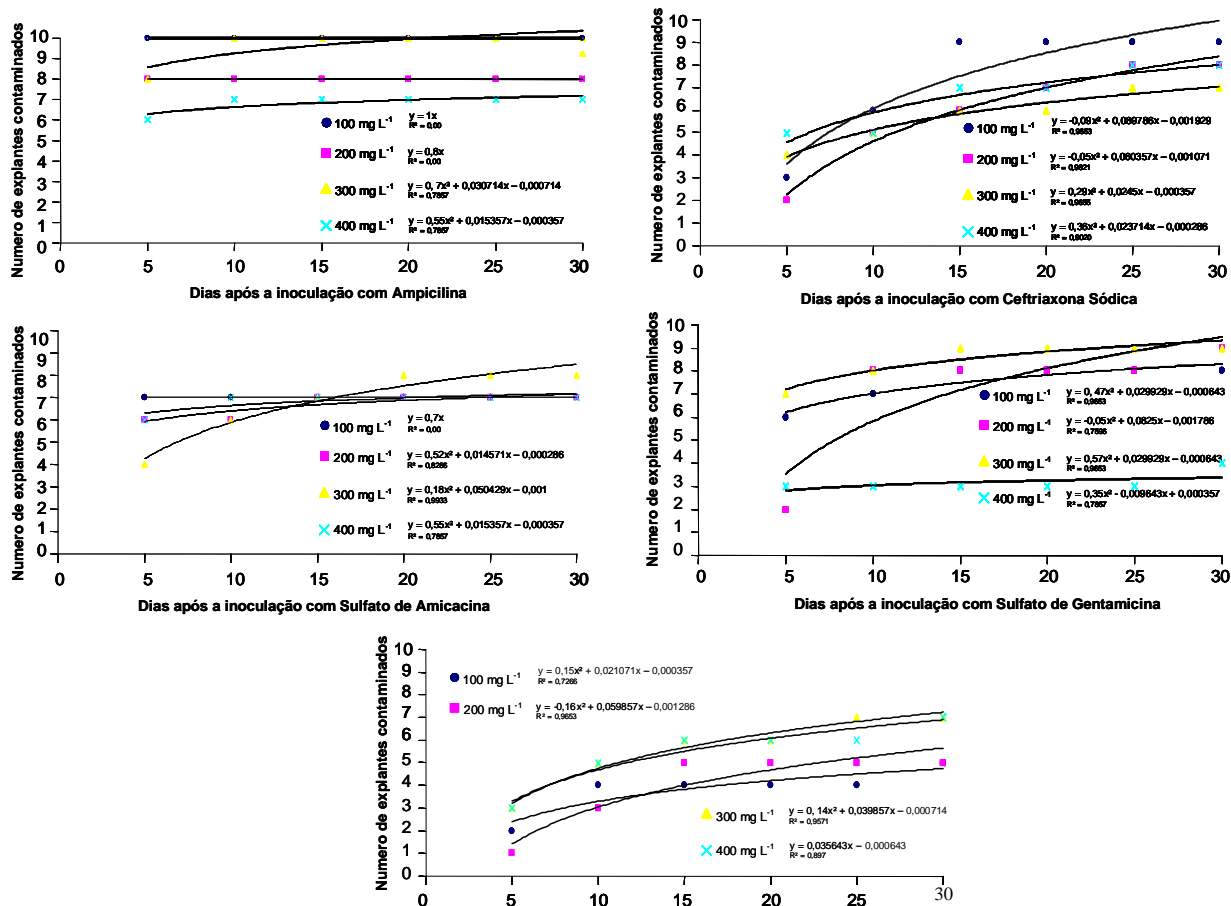


Figura 2. Curvas de avaliação da evolução de contaminantes sob efeito de antibióticos em diversas concentrações, no estabelecimento *in vitro* de explantes de *H. rostrata*.

A utilização do antibiótico rifamicina nas concentrações de 100, 200, 300 e 400 mg L⁻¹, inibiu o desenvolvimento das bactérias até o 20º dia da inoculação dos explantes, mais causou fitotoxicidade aos explantes. A partir deste período houve um incremento na velocidade de infestação, estabilizando-se até o final das observações (Figura 2).

O uso de antibióticos representa uma das grandes limitações da propagação devido ao elevado custo de aquisição (Cassel, 1987; Leifert et al., 1991 e Hamill et al., 1993) e nem sempre é eficiente, além de elevar o custo de produção de mudas *in vitro*.

Neste estudo, a maioria dos antibióticos testados não eliminou a contaminação dos explantes, sendo, portanto, necessário ajustar um meio de controle eficiente e menos fitotóxico aos explantes.

CONCLUSÃO

Os antibióticos testados não foram eficientes no controle de contaminação por bactérias endógenas, exceto o sulfato de gentamicina em alta concentração, além de exercerem um efeito fitotóxico sobre o explante inibindo o seu desenvolvimento ou oxidando todos os explantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASSEL, A. C. Bacterial and bacteria-like contaminants of plant tissue cultures. **Acta Horticultural**. v.212, p.25-28, 1987.

CASTRO, C. E. F. **Helicônia para exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília: EMBRAPA – SPI, 1995. 43p.

HAMILL, S. D.; SHARROCK, S. L.; SMITH, M. K. Comparasion of descontamination methods used in initiation of banana Tissue cultures from field-collected suckers. **Plant Cell, tissue and Organ Culture**. v. 33, p.343-346, 1993.

LEIFERT, C.; RITCHIE, J. Y.; WAITS, W. M. Contaminants of plant-tissue and cell cultures. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. v.7, p.452- 69, 1991.

MURASHIGE, T. & SKOOG., F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantum**. v.15, p.473-97, 1962.

RODRIGUES, P. H. V. *In vitro* establishment of *Heliconia rauliniana* (Heliconiaceae). **Scientia Agrícola**. v.62, n.1. p.69-71, 2005.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds). **Cultura de tecidos e transformação de plantas**. v.1. Brasília: EMBRAPA – CNPH, 1998. 509p.

PALAVRAS-CHAVE

Heliconia rostrata, antibiótico, contaminação endofítica, fitotoxidade.