

USO DE ANTIBIOTICO NA DESCONTAMINAÇÃO DE EXPLANTES DE MANDIOQUINHA-SALSA (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft)

Flávio Santos Lopes¹, Marlla de Oliveira Hott¹, Márcia Stumm¹, Fabricio Moreira Sobreira¹, Andreia Barcelos Passos Lima², Frederico de Pina Matta²

¹Centro de Ciências Agrárias da UFES / Departamento de Produção Vegetal, lopes.fs@ig.com.br

²Centro de Ciências Agrárias da UFES / Departamento de Produção Vegetal – Orientador(a)

Resumo- Este trabalho foi executado no laboratório de Biotecnologia Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da UFES, no município de Alegre, sul do Estado do Espírito Santo, visando estabelecer um protocolo de descontaminação eficiente da mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft), possibilitando o seu cultivo *in vitro*. Como um dos principais problemas para o desenvolvimento dessa técnica é a contaminação proveniente do campo, torna-se necessário um tratamento eficaz na descontaminação dos explantes por fungos e bactérias. A utilização das variedades branca e amarela não proporcionou diferença significativa sobre os tratamentos de descontaminação. A utilização do antibiótico Cefotaxima IM/IV no meio de cultura mostrou-se eficiente para a descontaminação bacteriana de explantes estabelecidos *in vitro*.

Palavras-chave: *Arracacia xanthorrhiza*; descontaminação, Cefotaxima IM/IV

Área do Conhecimento: Ciências Agrárias

Introdução

A mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) é uma Dicotyledoneae da família Umbiliferae, de porte herbáceo. É também conhecida no Brasil como batata-baroa, baroa, batata-cenoura, batata-salsa e outros. O seu cultivo é de grande importância social e econômica para as regiões produtoras.

No Espírito Santo o cultivo de mandioquinha-salsa está em expansão, tendo basicamente a Ceasa-MG como principal mercado atacadista. A cultura representa cerca de 2% do PIB estadual (9 bilhões de reais), 10% do PIB estadual agrícola (900 milhões de reais) e 1% da produção agrícola estadual (MUNIZ e MACHADO, 1995).

As sementes da mandioquinha-salsa apresentam problemas com germinação, mesmo quando estratificadas ou submetidas a tratamentos físicos e químicos (SEDIYAMA, 1988). Essa espécie pode apresentar contaminação endógena por patógenos degenerativos como micoplasmas, riquétzias e principalmente vírus podendo então necessitar de uma limpeza clonal, o que é possível através de cultivo *in vitro* de meristemas associado a outras técnicas de cultura de tecidos (LUZ et al., 1997).

A cultura de tecidos é uma ferramenta bastante utilizada no cultivo de hortaliças para limpeza clonal, propagação massal, resgate de embriões imaturos, intercâmbio e preservação de germoplasma entre outras aplicações.

A micropropagação tem sido realizada com sucesso em espécies hortícolas (batata e cenoura), ornamentais (orquídea, crisântemo e cravos), frutíferas (abacaxi, morango e banana), medicinais (ipeca e espinheira santa) e mais

recentemente em espécies florestais (pinus e eucalipto) (NUNES, 2005).

No entanto, para que as técnicas de cultura de tecidos possam ser utilizadas torna-se necessário o estabelecimento de um processo de descontaminação eficiente dos explantes provenientes de campo e casa de vegetação. Segundo Senna Neto (1990), têm sido freqüentemente observado contaminações por fungos e bactérias no meristema e outros explantes da cultura; as bactérias geralmente são os principais contaminantes, estando presentes em cerca de 80% do material contaminado (LUZ, 1993).

Litz e Conover (1977), trabalhando com mamão, mostraram que 95% dos explantes provenientes de plantas do campo, introduzidos *in vitro*, revelaram contaminação microbiana, mesmo após a descontaminação. Isso mostra a importância de se estabelecer protocolos visando determinar o tipo, a concentração e o tempo adequados do tratamento descontaminante ou do grupo de descontaminantes.

A adição de antibióticos no meio de cultura tem sido utilizada com o objetivo de diminuir as contaminações por bactérias endógenas. Um antibiótico ideal poderia apresentar características como: estabilidade frente as variações de pH, atuação sistêmica, não apresentem efeitos colaterais (afetar à germinação, síntese de clorofila, etc.), ser solúvel em água e não ser afetado por íons (FALKINER, 1990).

Embora seja uma fase primordial para o estabelecimento da cultura de tecidos, existem poucos trabalhos publicados a respeito de descontaminação de explantes (OLIVEIRA et al. 2000; VIANNA et al. 1997).

Este trabalho teve como objetivo testar o efeito do antibiótico meropenem no protocolo de descontaminação de explantes de mandioca-salsa visando o seu estabelecimento *in vitro*.

Metodologia

Este trabalho foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES).

As plantas de variedades comerciais de mandioca-salsa (branca e amarela) foram coletadas na região serrana do estado e levadas para o CCA-UFES.

Os explantes (ápices caulinares) foram retirados e imediatamente transferidos para o laboratório. Em seguida foram retirados os primórdios foliares, lavados em água destilada estéril para pré-desinfestação. Posteriormente, os explantes foram imersos em solução de detergente TWEEN 20 e mantidos sob agitação por cinco minutos. Após este período foram testados os tratamentos para descontaminação fúngica (álcool 70% por 1 minuto e hipoclorito de sódio a 1%). A desinfestação foi finalizada em câmara de fluxo laminar tipo horizontal com 3 enxágües em água destilada estéril. Os explantes desinfestados foram inoculados em tubos de ensaio contendo meio primário. Todo o processo foi realizado em condições assépticas em câmara de fluxo laminar.

O meio primário foi o MS (MURASHIGUE e SKOOG, 1962) e os reguladores de crescimento usados foram Cinetina (5,38 mg/L) e ANA (0,93 mg/L). O meio de cultura teve o seu pH ajustado em $5,7 \pm 0,1$ antes da adição do solidificante Ágar (7,0 g/L). Foram utilizados 20 mL de meio de cultura em tubos de ensaio de 25 x 150 mm. Foi testado o antibiótico Cefotaxima IM/IV na dose de 12,5 mg/L. As condições de cultivo da sala de crescimento foram ajustadas para temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 16 horas com intensidade luminosa de 1,2 Klux fornecida por lâmpadas do tipo luz do dia (SCHMILDT, 1994; VIANNA, 1996).

Durante o cultivo dos explantes em meio primário foi avaliada a taxa de contaminação dos explantes por fungos e bactérias para verificar o efeito descontaminante de cada tratamento.

Os tubos que apresentaram contaminação fúngica ou bacteriana foram encaminhados ao Laboratório de Fitopatologia do CCA-UFES para a identificação das famílias e os gêneros dos agentes contaminantes.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas.

Resultados

A análise de variância dos dados obtidos neste experimento mostrou existir diferença

significativa para o fator antibiótico. Os resultados estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 – Resumo da análise de variância do efeito dos tratamentos de descontaminação dos explantes de mandioca-salsa

FV	GL	Quadrado Médio
		Contaminação Bacteriana
Antibiótico	1	205,0313*
Fungicida	1	2,5312 ^{ns}
Variedade	1	2,5312 ^{ns}
Ant x Fun	1	3,7812 ^{ns}
Ant x Var	1	0,0312 ^{ns}
Fun x Var	1	5,2812 ^{ns}
Ant x Fun x Var	1	1,5312 ^{ns}
Resíduo	24	4,0729
CV (%)		35,290

* significativo a 5% de probabilidade

As médias dos dados dos tratamentos de descontaminação com e sem a utilização do antibiótico Cefotaxima IM/IV no meio de cultivo estão apresentados no gráfico 1.

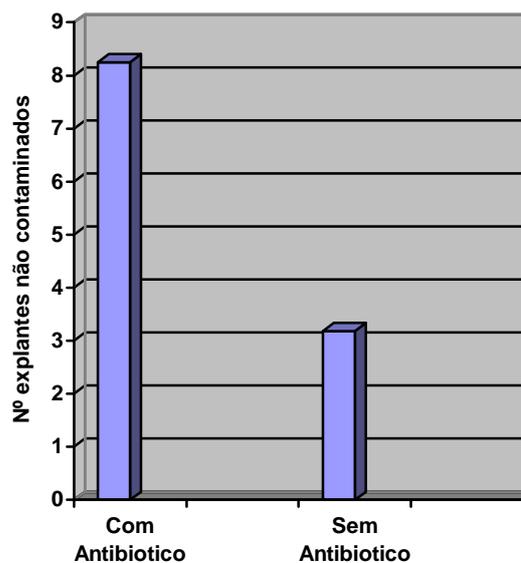


Gráfico 1 – Tratamentos de descontaminação bacteriana de explantes de mandioca-salsa.

Discussão

As variedades branca e amarela de mandioca-salsa utilizadas neste trabalho não influenciaram a manifestação da contaminação bacteriana no meio de cultura.

O uso dos descontaminantes álcool 70% e hipoclorito de sódio não demonstraram efeito significativo sobre a manifestação da contaminação bacteriana dos explantes.

Os resultados obtidos demonstram que a adição de antibiótico no meio de cultura foi eficiente para a descontaminação bacteriana.

A utilização de antibióticos no cultivo *in vitro* é recomendada para o controle de contaminações bacterianas endógenas que frequentemente representam sérios problemas no estabelecimento *in vitro* das culturas (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). No entanto, dificilmente se consegue eliminar completamente as bactérias, pois os antibióticos normalmente utilizados em cultura de tecidos vegetais possuem ação bacteriostática e não bactericida.

Conclusão

As variedades de mandioquinha-salsa (branca e amarela) utilizadas neste trabalho não influenciaram na contaminação bacteriana.

A utilização do antibiótico Cefotaxima IM/IV no meio de cultura primário mostrou-se eficiente para a descontaminação bacteriana de explantes estabelecidos *in vitro*.

Referências

- NUNES, H.da C.B. **Micropropagação de espécies**. Disponível em: <http://www2.uepa.br/tenagro/isetec/mini-cursos/micropropagação_de_especies.htm>. Acesso em: 08 out. 2005.
- MUNIZ, J.M.; MACHADO, N.D.. Visão prospectiva da cadeia produtiva da mandioquinha-salsa no Estado do Espírito Santo. In: ENCONTRO NACIONAL DE MANDIOQUINHA-SALSA, 5.,1995, Venda Nova do Imigrante. **Palestras e trabalhos técnicos... Venda Nova do Imigrante: SOB**, 1995.p.10-14.
- SEDIYAMA, M.A.N. Métodos de propagação da batata-baroa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft). Viçosa: UFV, 1988. 114p. Tese Doutorado.
- LUZ, J.M.Q.; PASQUAL, M.; SOUZA, R.J. de; Cultura de tecidos e biotecnologia em mandioquinha-salsa. **Informe Agropecuário**. v.19, n.190. p.18-21.1997.
- LUZ, J.M.Q. **Obtenção in vitro de plantas de mandioquinha-salsa (*Arracacia Xanthorrhiza* Bancroft), via cultura de meristemas**. Lavras: ESAL, 1993. 52p. Tese Mestrado.
- FALKINER, F. R. The criteria for choosing an antibiotic for control of bacteria in plant tissue culture. **Calgary:Internacional Association of Plant Tissue Culture**, p.13-23, 1990. In: Oda, M. L.; Faria, R. T. de;Fonseca I. C. B.; Silva, G. L..Avaliação da fitotoxicidade de fungicidas e germicida na propagação *in vitro* de *Oncidium varicosum* Lindl. (Orchidaceae) para o controle de microorganismos **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.24, n.2, p. 273-276, jul./dez. 2003.
- LITZ, R. E. & CONOVER, R. Tissue culture propagation of papaya. **Proceedings of the Florida State Horticultural**, Winter Haven, 90:245-246, 1977. In: VIANNA, G.R.; COUTO, F.A.A.; OLIVEIRA, A.B.; ZAMBOLIM, L.; MARIA, J. A rifampicina na descontaminação bacteriana de explantes de mamoeiro provenientes do campo. **Bragantia**, Campinas, v.56, n.2, p.1-9, 1997.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.
- SCHMILDT, E.R. **Enraizamento “in vitro” e “ex vitro” de ramos de mamoeiro (*Carica papaya* L.)**. Viçosa, MG: UFV, 1994. 76p. (Tese de Mestrado).
- SENNA NETO, N. **Micropropagação de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft)**. Viçosa: UFV, 1990. 53p. Tese Mestrado.
- VIANNA, G.R. **Micropropagação do mamoeiro (*Carica papaya* L.) utilizando ápices caulinares de plantas adultas**. Viçosa, MG, UFV, 1996. 66p. (Tese de Mestrado).