

## AVALIAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AGRIMICINA PARA MICROPROPAGAÇÃO DE BANANEIRA IAC 2001

*Renato Lepri Bobroff*<sup>1</sup>  
*Janaina Batista Lenza*<sup>2</sup>  
*Gustavo Alves Pereira*<sup>3</sup>  
*Marcio Roggia Zanuzo*<sup>4</sup>  
*Alessandra Bittencourt Crestani Rodrigues*<sup>5</sup>

### RESUMO

*A contaminação de explantes por bactérias ocasiona grandes perdas na micropropagação de plantas, comprometendo a fase de estabelecimento in vitro. Com o objetivo de diminuir essas contaminações bacterianas, este trabalho avaliou diferentes concentrações do bactericida agrimicina na desinfestação de explantes para micropropagação de bananeira IAC 2001. Os explantes foram imersos nas diferentes concentrações do bactericida agrimicina durante vinte minutos e introduzidos em meio de cultura MS sólido com pH 5,7. O estabelecimento foi realizado em sala de crescimento com temperatura  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 16 horas a uma intensidade luminosa de  $30 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado composto por cinco tratamentos e cinco repetições, sendo cada repetição composta por um explante. A maior eficiência dentre os tratamentos testados foi o de imersão dos explantes em 6g.L<sup>-1</sup> do bactericida agrimicina por vinte minutos e as doses testadas não foram tóxicas aos explantes, permitindo o desenvolvimento normal dos mesmos.*

- 1 Eng. Agrônomo pela Universidade de Cuiabá – UNIC. renatochapa@hotmail.com
- 2 Bióloga – UNIC, Especialista em Genética e Evolução – FACINTER, e Mestre em Agricultura Tropical – UFMT. Docente dos cursos de Engenharia Civil, Ambiental e Agronomia – Universidade de Cuiabá – UNIC. lenzamaracuja@gmail.com
- 3 Eng. Agrônomo – Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial –UMFT Campus Sinop-e-mail: marcioz@ufmt.br
- 4 Eng. Agrônomo – EMPAER-MT, Mestre em Fitotecnia – ESALQ/USP. Doutorando em Fitotecnia- UNESP, Ilha Solteira-SP. gustavo\_apereira@hotmail.com
- 5 Eng. Agrônomo – UNIC, Mestre em Agricultura Tropical – UFMT. Docente dos Cursos de Agronomia e Medicina Veterinária – Universidade de Cuiabá – UNIC. alecrest@gmail.com

**PALAVRAS-CHAVE**

'IAC 2001', micropropagação, agrimicina

**ABSTRACT**

*The explants contamination causes great losses in the plants micropropagation, compromising the phase of in vitro establishment. With the objective of reducing those contaminations, different concentrations of agrimicin antibiotic were evaluated in the disinfection of the explants of banana. The explants were immersed in concentrations of agrimicin antibiotic with 0g L<sup>-1</sup>; 1g L<sup>-1</sup>; 2g L<sup>-1</sup>; 3g L<sup>-1</sup>; 4g L<sup>-1</sup>; 5g L<sup>-1</sup>; 6g L<sup>-1</sup> for twenty minutes and introduced in solid medium MS, with pH 5.8. The establishment was accomplished at growth room with temperature 25 ± 2 °C and photoperiod of 16 hours of light at a luminous intensity of 30 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. The establishment was accomplished at growth room with temperature 25 ± 2 °C and photoperiod of 16 hours of light at a luminous intensity of 30 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. The experimental design was entirely randomized with four treatments and five replicates, being each replicate composed by five explants. The largest efficiency among the tested treatments was the immersion of the explants in 6g L<sup>-1</sup> do bactericin agrimicin for twenty minutes and the tested doses were not poisonous to the explants, allowing the normal development of the same ones.*

**KEYWORDS**

'IAC 2001', micropropagation, agrimicin

**Introdução**

O Brasil é um dos principais produtores mundiais de banana, em 2006, o país apresentou área plantada de 511.151 hectares e área colhida de 504.586 hectares (IBGE, 2008).

Mesmo com uma produção significativa, ainda nos encontramos em terceiro lugar na escala mundial, perdendo para a Índia com 16.000.000 toneladas em 490.000 hectares e o Equador - 7.561.119 toneladas em 228.985 hectares. Em 2002 a banana foi a segunda fruta mais produzida no mundo, ficando

atrás somente da melancia. (FAO, 2002). A banana em 2002 foi a segunda fruta mais produzida, só perdendo para a melancia.

O Estado de Mato Grosso cultivou, em 1994, uma área de 56 mil hectares de banana, tornando-se um dos principais produtores no país, em 2006 a área plantada caiu para 7.527 ha, (IBGE, 2008). Essa diminuição na área plantada começou a ocorrer com a disseminação de pragas e doenças através de mudas tradicionais e com a entrada da Sigatoka-negra no Estado de Mato Grosso em 1999 na região de Cáceres (SOUZA & FEGURI, 2004).

Embora exista um número expressivo de variedades de banana no Brasil, quando se consideram aspectos como preferência dos consumidores, produtividade, tolerância a pragas e doenças, resistência à seca, porte e resistência ao frio, restam poucas cultivares com potencial agrônômico para serem usadas comercialmente. As cultivares mais difundidas no Brasil são: Prata, Pacovan, Prata Anã, Maçã, Mysore, Terra e D'Angola, do grupo AAB, e Nanica, Nanicão e Grande Naine, do grupo AAA, utilizadas principalmente na exportação. As principais características destas cultivares são mostradas nas Tabelas 1 e 2. Em menor escala são plantadas a 'Figo Cinza', 'Figo Vermelho', 'Ouro', 'Caru Verde' e 'Caru Roxa'. As cultivares Prata e Pacovan são responsáveis por aproximadamente 60% da área cultivada com banana no Brasil. (ALVES, 1999).

A propagação indevida de mudas via rizoma, foi a principal causa da disseminação das doenças, as mudas micropropagadas possibilitará ao produtor plantar mudas isentas de pragas e doenças. (CORDEIRO, 2000)

No passado, no Brasil, existiram problemas relacionados à qualidade das mudas micropropagadas de bananeira, devido às altas porcentagens de variação somacional. Estudos indicam que isto ocorre devido ao excessivo número de repicagens (RODRIGUES, 1996).

Atualmente, tal problema foi minimizado e, com a possibilidade de se reduzir o custo de produção pelas companhias de biotecnologia e venda de tais mudas, espera-se maior utilização destas mudas pelos agricultores. Vários são os fatores que oneram o preço final das mudas micropropagadas (LE MOS *et al*, 2001), e os al-

tos custos envolvidos têm dificultado a produção nos laboratórios com recursos limitados (KODYM & ARIAS, 2001). Com o avanço das pesquisas, algumas técnicas estão sendo empregadas com a finalidade de se reduzirem os custos das mudas micropropagadas.

Na procura de mudas isentas de patógenos, a fitopatologia tem auxiliado com o uso de várias substâncias que inibem e/ou que erradicam totalmente o patógeno das mudas, dentre os antibióticos pode-se citar como: Rifampicina, Mycoshield e Agrimicina.

A rifampicina, um antibiótico do grupo das rifamidas, é indicada para controlar bactérias gram-positivas (POLLOCK *et al.*, 1983) e gram-negativas tem mostrado um potencial elevado no controle de infecções endógenas. Cornélio, (1995), mostrou um efetivo controle de bactérias endógenas em gemas laterais de mamoeiro na micropropagação. (YOUNG *et al.*, 1984).

Outros autores Cunha *et al.*,(2006), porem trabalhando com antibióticos Mycoshield e Agrimicina mostraram eficiências em bactérias como *Erwinia caratovora* e *Xanthomonas vesicatoria* em batatas, tomates e pimentões.

Apesar de a técnica de propagação *in vitro* da bananeira ser bastante difundida, percebe-se que há deficiência em trabalhos que visem a verificação de índices e tipos de bactericidas e suas respectivas concentrações na produção de mudas de bananas, isentando do patógeno *Erwinia sp.*

Por este motivo o objetivo deste trabalho foi avaliar as diferentes concentrações de agrimicina na micropropagação de bananeira IAC 2001.

---

## Material e Métodos

---

O experimento foi conduzido no Núcleo de Laboratório de Cultura de Tecidos da EMPAER-MT. Este trabalho foi desenvolvido no período de janeiro de 2008 a fevereiro de 2008.

Os explantes utilizados foram oriundos do Centro Regional de Pesquisa e Transferência de Tecnologia da EMPAER-MT, localizada no município de Cáceres.

As mudas foram do tipo “Chifrinho”, da variedade IAC 2001.

Realizou-se a lavagem das mudas com água e em seguida foram fracionadas de modo a reduzir o número de folhas do pseudocaule. Após a retirada, foi feita a desinfestação dos explantes, foram imersos em solução de 0,08% de Cloro Ativo durante 20 minutos, passado esse período, os explantes foram vertidos para outro recipiente com as diferentes concentrações de Agrimicina por 20 minutos. Passado esse período os explantes passaram pela tríplice lavagem com água esterilizada em câmara de fluxo laminar.

Utilizou-se meio de cultura o MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), acrescentado de 30g de Sacarose e 2,3g de Phytigel, e o pH ajustado a 5,7.

O meio de cultura foi transferido para a câmara de fluxo laminar para a transferência dos explantes.

Realizado a descontaminação do local e anteriormente a desinfestação do material realizou-se a inoculação dos explantes. Os explantes sofreram sucessivas reduções com ajuda de pinças e bisturis sobre papel de filtro esterilizado, até atingir o tamanho em torno de 0,5 cm de rizoma e aproximadamente 1 cm de pseudocaule para serem inoculados.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado com sete tratamentos e cinco repetições, sendo cada repetição representada por um explante e os dados submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Os tratamentos que constituíram o experimento foram: T1 (testemunha, sem agrimicina); T2 (1g. L<sup>-1</sup> de agrimicina); T3 (2g. L<sup>-1</sup> de agrimicina); T4 (3g. L<sup>-1</sup> de agrimicina) e T5 (4g. L<sup>-1</sup> de agrimicina), T6 (5g. L<sup>-1</sup> de agrimicina), T7 (6g. L<sup>-1</sup> de agrimicina).

A fase de estabelecimento foi realizada em sala de crescimento com temperatura 25 ± 2°C e fotoperíodo de 16 horas a uma intensidade luminosa de 30 μmol. m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>.

As avaliações de contaminação foram realizadas aos 30 dias após o estabelecimento dos explantes.

## **Resultados e Discussão**

De acordo com as análises de variância (Tabela 1), os tratamentos utilizando o antibiótico agrimicina em diferentes concentrações para assepsia dos explantes resultaram em diferença significativa para as avaliações realizadas trinta dias após o início do trabalho.

**Tabela 1** – Número e percentagem de contaminação de explantes de bananeira IAC 2001 submetidas a diferentes concentrações de agrimicina na fase de estabelecimento.

Tratamentos	Médias % de Contaminação
T1 (Testemunha)	100 A
T2 (1g. L <sup>-1</sup> de agrimicina)	80 AB
T3 (2g. L <sup>-1</sup> de agrimicina)	60 AB
T4 (3g. L <sup>-1</sup> de agrimicina)	60 AB
T5 (4g. L <sup>-1</sup> de agrimicina)	60 B
T6 (5g. L <sup>-1</sup> de agrimicina)	40 B
T7 (6g. L <sup>-1</sup> de agrimicina)	00 B

\*Valores seguidos de letras iguais, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Verificou-se que o tratamento com agrimicina com maior eficiência foi T7 com 6g.L<sup>-1</sup> de agrimicina constatou 0% da bactéria *Erwinia sp.*, já o T1 com 100% de contaminação, T2, T3 e T5 com 60%, T4 com 80% e T6 com 40% de contaminação da bactéria *Erwinia sp.*

A concentração (Tratamento 7) foi o que obteve os melhores resultados no controle de desenvolvimento de microorganismo e diferiu da testemunha (tratamento 1). Para o resultado encontrado faz necessário lembrar que a etapa da descontaminação é primordial para ação da agrimicina, como descreve alguns autores em outros estudos.

Vianna *et al.*, (2003) relataram que utilizaram como des-contaminantes para os explantes de mamoeiro apenas hipoclorito de sódio em diferentes concentrações sendo impossível conseguir explantes sem sinais visíveis de contaminação, principalmente por bactérias.

No experimento realizado por Erig & Fortes (2002) no estabelecimento *in vitro* de cultivares de pereira (*Pyrus spp.*), obtiveram contaminação bacteriana em 45,7% das gemas e 18,8% dos meristemas utilizando-se como rotina de assepsia somente álcool 70% e hipoclorito de sódio.

Naue *et al.*, (2007), verificaram que a adição de antibióticos ao meio de cultura foram necessárias no controle de contaminação bacteriana em *Nicotiana tabacum sp.*, alguns fungicidas adicionados ao meio de cultura foram eficientes e controlaram 100% da contaminação fúngicas, a utilização de álcool e hipoclorito de sódio não foram eficientes para controlar os microrganismos contaminantes.

Handa *et al.* (2005), verificou em explantes de pau-rosa (*Aniba rosaeodora*), agrimicina nas concentrações de (0, 300, 400 e 500 mg L<sup>-1</sup>), tendo a concentração de 300 mg L<sup>-1</sup>), com maior eficiência.

Pereira *et al.*, (2008), avaliou diferentes concentrações do bactericida agrimicina na desinfestação de explantes para micropropagação de bananeira IAC 2001, a maior eficiência dentre os tratamentos testados foi o de imersão dos explantes em 4g.L<sup>-1</sup> do bactericida agrimicina por vinte minutos e as doses testadas não foram tóxicas aos explantes, permitindo o desenvolvimento normal dos mesmos.

Pereira e Fortes, (2003), verificaram que os antibióticos clo-ranfenicol e a tetraciclina (agrimicina) nas concentrações de 64 e 128 mg. L<sup>-1</sup> foram mais eficientes no controle de bactérias do gênero *Erwinia sp* em explantes de batatas.

Mantovani, (2007), obteve controle de bactérias em explantes de urucum usando os antibióticos agrimicina, timentin, aos 30 dias se obteve 28% de explantes livres de contaminações como também baixa toxicidade.

Biasi *et al.* (1997), usando à assepsia da brotação das estacas, foi realizada pela imersão em solução de Agrimicina ( $1 \text{ g.L}^{-1}$ ) durante 30 minutos, observaram que a perda de explantes por contaminação foi em média de 7,1% em todo o experimento, o que indica que a assepsia utilizada foi eficiente.

Na literatura, não há ainda a descrição de um protocolo para isenção de *Erwinia sp.* em bananas. Nesta pesquisa utilizando *Musa sp.* da variedade IAC 2001 a concentração do Tratamento 7 ( $6 \text{ g.L}^{-1}$  de agrimicina). pode ser recomendada para preparação de meios de propagação *in vitro* de *musa sp.*.

---

### Conclusão

---

Concluiu-se que a dosagem de  $6 \text{ g.L}^{-1}$  do bactericida agrimicina é capaz de reduzir a contaminação por *Erwinia sp* em explantes de banana da cultura IAC 2001 na micropropagação *in vitro*.

### Referências Bibliográficas

---

ALVES, E. J. *A cultura de banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agrone industriais*. 2. ed. Brasília: Embrapa- Cruz das Almas. 1999.

BIASI, L.A; PASSOS, I.R.S; POMMER, C. V. Micropropagação do porta-enxerto de videira jales. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.33, n.10, p.1587-1594, 1998.

CORDEIRO; Z. J. M. *Banana*. Produção Aspectos Técnicos, EMBRAPA, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Brasília-DF, 2000.

CORNÉLIO, In; HARIDASAN, P. Desinfestação de gemas laterais de mamoeiro (*Carica papaya L.*) provenientes de vários locais do Distrito federal. In: Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal. *Resumos*. Lavras: UFLA, p.136, 1995.

CUNHA, J.F; PICOLI, E. A.T; ALFENAS, A.C; GONÇALVES, R.C. Efeito *in vitro*. De antibióticos e rizobactérias no controle de bactérias fitopatogênicas ao *Eucalyptus spp.* *Revista Árvore*, Viçosa-MG, v.30, n.6, p.871-876, 2006.

ERIG, A C.; FORTES, G. R. Estabelecimento de pereira (*Pyrus spp.*) *in vitro* a partir de meristemas e gemas. *Revista Ciência Rural*. v. 32, p. 577-582, 2002.

FAO STAT AGRICULTURE DATA. <http://apps.fao.org/page/form?collection=Production.Crops.Primary&Domain=Production&servlet=1&language=EN&hostname=apps.fao.org&version=default>. Acesso em 27/12/2008.

HANDA, L.; SAMPAIO, P.; QUISEN, R.; Cultura *in vitro* de embriões e de gemas de mudas de pau-rosa (*Aniba rosaodora Ducke*). *Ata amazônica*. v.35, p. 29-33, 2005.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In...45a Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria. UFSCar, São Carlos, SP, Julho de 2000. p.255-258.

IBGE, censo agropecuário e produção agrícola nacional. [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br) 2008.

KODYM, A.; ARIAS, F.J.Z. Low-cost alternatives for the micropropagation of banana. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, Dordrecht, v.66, p.67-71, 2001.

LEMOS, E. E. P.; FERREIRA, M. S.; ALENCAR, L. M. C.; OLIVEIRA, J. G. L.;MAGALHÃES, V.S. Micropropagação de clones de banana cv. *Terraem* biorreator de imersão temporária. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal*, v.23, n.3, p.482-487, 2001.

MANTOVANI, N.C. propagação vegetativa e cultivo *in vitro* de Bixa orellana L e Ginkgo biloba L. In: Tese de doutorado, UFV, p. 41-57, 2007.

MURASHIGE, T; SKOOG, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, v.15, n.3 p.473-497, 1962.

NAUE, C.R; BENITIZ, L.B; MEDEIROS, C. V. Eliminação de contaminantes microbianos da cultura de tecidos de *Nicotiana tabacum L*. In: XVI Congresso Iniciação Científica, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Resumos. Pelotas, 2007, p. 1-5.

PEREIRA, J.; FORTES, G. Toxicidade de antibióticos no cultivo *in vitro* da batata em meios semi-sólido e líquido. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. n.11, v.38, p. 1273- 1279, 2003.

PEREIRA, G. A. *et. al.* Diferentes concentrações do bactericida agrimicina na desinfestação de explantes para micropropagação de bananeira IAC 2001. TCA, *Revista Virtual da EMEPA-PB*, João Pessoa-PB, 2008. No Prelo.

POLLOCK, K.; BARFIELD, D. G. & SHIELDS, R. The toxicity of antibiotics to plant cell cultures. *Plant Cell Reports*, Heidelberg, 2:36-39, 1983.

RODRIGUES, P. H. V. Efeito do número de subcultivos, na ocorrência de variação somaclonal, em mudas de bananeira micropropagadas, das cultivares Nanicão e Grande Naine. 1996. 104f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – CENA, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.

SOUZA, N.S; FEGURI. E. Ocorrência da Sigatoka Negra em bananeira causada por *Mycosphaerella fijiensis* no Estado de Mato Grosso. *Fitopatologia Brasileira*, vol. 29, n. 2, p. 225-226, 2004.

VIANNA, G.R. F. A. A Couto, A. B. de Oliveira, L. Zambolim & J.Maria. A rifampicina na descontaminação bacteriana de explantes de mamoeiro provenientes do campo. *Bragantia*, v. 56 (2). Campinas: 249-254. 2003.

YOUNG, P. M.; HUTCHINS, A. S. & CANFIELD, M. L. Use of antibiotics to control bacteria in shoot cultures of woody plants. *Plant Science Letters*, Limerick, 34:203-209, 1984.