

IMPORTÂNCIA E USO DOS ANTIMICROBIANOS NA CULTURA IN VITRO DA BANANEIRA: UMA REVISÃO DA LITERATURA

Ariane Souza do Amaral¹ Nathalia Serafim dos Santos² Thais Hora Paulino Estanagel² Ricardo
Silveira Leite² Edson Hideaki Yoshida²

¹Graduanda do Curso de Farmácia do Centro Universitário Sudoeste Paulista– Itapetininga/SP;

²Docente do Centro Universitário Sudoeste Paulista – Itapetininga/SP;

RESUMO

O cultivo da banana no método convencional favorece o aparecimento de doenças e pragas, a qual comprometem as plantações acarretando perdas e conseqüentemente aos agricultores gerando grande importância fitossanitária. Mas com os avanços das biotecnologias agroindustriais, é possível cultivar mudas de bananeiras através da cultura de tecido in vitro, a micropropagação, onde está, permite uma produção de larga escala e livre de doenças, garantindo a qualidade do fruto. Porém, esta técnica, proporciona um ambiente favorável para o crescimento microbiano, que para a prevenção e controle destes contaminantes, se faz necessário o uso de antimicrobianos na fase de desinfestação (introdução do explante no laboratório) e na fase de estabelecimento (micropropagação das plantas) durante cultivo in vitro da banana. O objetivo do estudo consiste em uma revisão da literatura para abordar sobre a importância do uso do antimicrobianos nestas duas fases. Foi possível compreender que para o cultivo das bananeiras utilizando a técnica de cultura de tecido in vitro, independente das espécies das bananas é indispensável o uso de algum antimicrobianos para a prevenção e controle microbiano tanto na fase de desinfestação como estabelecimento. Diante do exposto, sugere a necessidade de novos trabalhos que aborde sobre o uso de antimicrobianos e que também favoreça o melhor custo benéfico aos laboratórios.

Palavra-chave: Antimicrobianos; Contaminação; Cultura de Tecido; Bananeira.

INTRODUÇÃO

O Brasil é um grande produtor de banana, a fruta é cultivada em todas as Unidades da Federação com uma produção estimada em 6,9 milhões de toneladas no ano de 2018. Sendo o estado de São Paulo, com participação de 16,8% na produção nacional, Bahia (14,2%), Minas Gerais (11,8%) e Santa Catarina (10,4%) são os maiores produtores. Em São Paulo e no Paraná, os rendimentos médios (de 21 571 kg/ha e de 24 402 kg/ha, respectivamente) são os maiores do país (IBGE, 2018).

“Apesar do Brasil ser um dos maiores produtores e consumidor da banana, devido os problemas fitossanitários ao cultivar a fruta o produtor está sujeito a perda de até 40% do que foi produzido nas fases de pós colheitas.” (ALMEIDA; CORDEIRO, 2000, p.10).

A qualidade fitossanitária da fruta é um fator extremamente importante, pois, apenas os frutos que obtiver alta qualidade, ou seja, livre de pragas e doenças

poderá ser comercializada, principalmente para exportações, a qual possui exigências específicas da parte dos países importadores de frutas onde há restrições da entrada de frutas portadoras de organismos exóticos, que possam representar risco para a agricultura do país importador (SILVA; CORDEIRO 2000).

As vantagens da micropropagação ao se comparar com métodos convencionais de plantio, é porque possui uma maior taxa de multiplicação e alta qualidade fitossanitárias das mudas, ou seja, livre de pragas e doenças (BRAGA; SÁ; MUSTAFÁ, 2001).

Além disso, as plantas micro propagadas, produzem até 30% a mais que as a mudas convencionais. Sobrevivem mais no campo, apresentam características genéticas idênticas a matriz evitando disseminação de pragas e são saudáveis; portanto, crescem mais rapidamente por apresentarem uniformidade na produção e florescem até 4 meses antes produzindo mais filhos por ano quando comparado ao método convencional (ALVES et al., 2004)

Porém, para se obter sucesso na cultura de tecido vegetal, está vinculado com medidas de controle e prevenção da contaminação microbiana (LEIFERT et al., 1994; Silva et al., 2003, p. 139-183, apud PEREIRA, 2010 p.35).

Pois, durante a micropropagação, é comum descartar os frascos que apresentam algum tipo de crescimento de colônias visíveis ao olho nu, já que, os microrganismos podem competir com as plantas pelos nutrientes que estão disponíveis no meio de cultura e liberam substância tóxicas aos cultivos, podendo levar a morte das plântulas (PEREIRA, 2010).

No caso de fungos e leveduras é mais fácil a identificação quando crescem no meio de cultura, já as bactérias, muitas das vezes, não apresentam crescimento visível, principalmente as que são latentes, pois, além de não serem visíveis, não manifestam sintomas nas plantas, por essa razão, a contaminação endofítica endógena se torna a principal preocupação na cultura de tecidos, visto que, a sua disseminação é silenciosa, podendo existir a possibilidade de sua detecção apenas no estágio de propagação, onde também, a multiplicação clonal já ocorreu, acarretando perdas total ou parcial do lote propagado (PEREIRA et al., 2003).

METODOLOGIA

Este artigo é uma revisão de literatura onde aborda sobre a importância do uso dos antimicrobianos durante as fases de desinfestação e de estabelecimento durante o cultivo *in vitro* das bananeiras para prevenção e controle da contaminação microbiana.

A revisão de literatura deste trabalho foi feita através de conteúdos de livros acadêmicos; sites de buscas como EMBRAPA; IBGE; FAO; e base de dados da Scielo (Scientific Electronic Library Online); Científica (Revista de ciências agrárias); onde foram selecionados todos os estudos que atendessem o assunto abordado. Os artigos que apresentaram especificidade com tema proposto foram publicados no período de 2000 a 2015 utilizando os seguintes descritores: Antimicrobianos, contaminação, Cultura de tecido, banana.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Através da revisão de literatura, na tabela abaixo podemos resumir com detalhamento e características os antimicrobianos que são amplamente utilizados para prevenção e controle de contaminação microbiana nas culturas de bananeiras:

Quadro 1- Principais antimicrobianos utilizados no cultivo *in vitro* da bananeira.

PRINCIPIO ATIVO	FASE	FAIXA DE USO	VANTAGEM	DESVANTAGEM
Álcool 70%	Desinfestação inicial	70%	Baixo custo e eficiente no controle	Danifica o tecido dependendo do tempo de exposição
Hipoclorito de Sódio	Desinfestação inicial e Micropropagação	0,5% a 5% (dependendo da fase)	Baixo custo e eficiente no controle	Danifica o tecido dependendo do tempo de exposição
Rifampicina	Desinfestação inicial e Micropropagação	100 a 300 mg/L -1 (dependendo da fase)	Eficiente em combinação com NaCL (desinfestação)	Fito tóxico em [] > 100 mg/L em meio de cultura
Cefotaxima	Micropropagação	300 mgL-1	Alta eficiência no controle 73,33% para bactérias.	Alto custo e fitotóxica em [] > que 500mg/L em meio de cultura
Ampicilina sódica e Cloranfenicol	Micropropagação	Entre 15 mg/L a 20 mg/L-1	Reduz até 70% dos contaminantes, quando adicionado em meio de cultura	Apresenta oxidação e a eficiência de controle é genótipo dependente.

Fonte: CARNEIRO et al, 2000; BRAGA; SÁ; MUSTAFÁ, 2001; LIMA; MORAES 2006; PEREIRA et al, 2012; PEREIRA et al, 2014; PEREIRA; BOLIANI; CORREA, 2015; PEREIRA et al 2015.

Para o cultivo das bananeiras utilizando a técnica de cultura de tecido *in vitro*, é indispensável o uso de algum antimicrobiano, tanto na fase de desinfestação ou de estabelecimento, sendo assim, prevenindo ou controlando a perda das mudas por contaminação microbianas e conseqüentemente não acarretando perdas e custo ao laboratório. Como cita alguns autores, os antimicrobianos que podem ser utilizados durante essas fases podem variar conforme as espécies, onde que, para Carneiro, et al. (2000) “a desinfestação da Banana (*Musa AAB cv. MAÇÃ*), pode ser feita em Solução de hipoclorito de sódio a 10³ e Tween 20 (30 gotas/L) durante 30 minutos, após e enxaguados três vezes com água destilada.

Lima e Moraes (2006) para (Musa AAA cv. CAIPIRA) como princípio, também utilizou a água corrente e a imersão em álcool 70% por trinta segundos. Após, fez-se a imersão em solução com diferentes concentrações de NaOCl e Tween 20 (30 gotas L⁻¹) durante vinte minutos, sob agitação constante. Por último, após o pré tratamentos, os ápices caulinares passaram por três lavagens consecutivas em água esterilizada.

Para Pereira, et al. (2012), " a desinfestação superficial dos explantes da banana 'Mysore' foram imersos em 750 ml de água destilada e 250 ml de hipoclorito de sódio (0,5% de cloro ativo) durante vinte minutos."

Pereira, et al (2015) concluiu que em bananeira 'Thap maeo' (sub grupo AAB) a imersão dos explantes a 2% de cloro ativo para descontaminação proporcionou redução 82% para bactérias e 88% com fungos, mas, causou 64% de oxidação nos explantes, porém, não levou a morte dos mesmos.

Já para banana Farta Velhaço (Sub Grupo AAB), durante a desinfestação, a imersão dos explantes na concentração de 1% de cloro ativo, pode reduzir 95% da de bactérias, e 90% de fungos, sendo assim, obtendo controle da contaminação durante a micropropagação porém, ocorre oxidação em 60% dos explantes (Pereira, et al, 2015).

Com a Banana (Musa sp.) CV. CAIPIRA (AAA), Braga; Sá; Mustafá, (2001), fizeram imersão em álcool 70% por 1 min, em hipoclorito de sódio por 20 min e lavagem em três águas autoclavadas, chegaram à conclusão que apenas estabelecer as condições de assepsia não é suficiente como controle de contaminantes encontrado ao longo da propagação do explante, sendo necessário, identificar melhor os contaminantes e estudar estratégias para sua prevenção e controle, principalmente para as contaminações com bactérias.

Portanto, na fase de estabelecimento in vitro para o combate destas contaminações endógenas dos explantes, se faz necessário o uso de antimicrobianos adicionados no meio de cultura para serem utilizadas na micropropagação das plantas.

O antibiótico cefotaxima na concentração de 300 mgL⁻¹ adicionados no meio de cultura, apresenta um controle de 73,33% para bactérias na banana Musa AAB cv. MAÇÃ, (CARNEIRO, et al. 2000).

Com as bananeiras Musa AAA cv. CAIPIRA, o melhor tratamento para explantes recém isolados foi a associação do NaOCl 1% (v/v) com rifampicina 300 mg L⁻¹, sendo feito a imersão de ambos componentes assim consecutivamente por 10 minutos e o outro durante 20 minutos. Em caso de contaminação também é apropriado usar as mesmo procedimento. O resultou que apresentou maior eficiência no controle da contaminação foi obtida com a imersão prévia dos explantes em NaOCl a 5% (v/v) e 300 mg L⁻¹ de rifampicina durante vinte minutos, com subsequente cultivo, contendo rifampicina na concentração de 100 mg L⁻¹ em meio de cultura . Porém o uso da rifampicina em meio de cultura provocou redução na multiplicação dos explantes, mas não foram detectadas nenhum tipo de anormalidades nos explantes ou plântulas cultivadas (LIMA; MORAES, 2006).

Na banana 'Thap maeo', os antibióticos ampicilina sódica e cloranfenicol na adicionados em meio de cultura na concentração 20 mg L⁻¹, controlam os contaminantes endógenos, reduzindo até 70% das contaminação por fungos e

bactérias, apresentando uma certa taxa de oxidação, porém, não nociva aos explantes (PEREIRA; BOLIANI; FURLANI JUNIOR, 2014).

A adição de ampicilina sódica e clorafenicol no meio de cultura para os banana Mysore também é eficiente para o controle de contaminantes endógenas, porém, na concentração 15 mg L⁻¹, reduz até 20% das bactérias e fungos, apresentando pouca oxidação aos explantes (PEREIRA et al., 2012).

A partir desses resultados obtidos, os antimicrobianos que foram utilizados no cultivo das bananas in vitro como o Álcool 70%, Hipoclorito de Sódio, Rifampicina, Cefotaxima, Ampicilina Sódica e Cloranfenicol em combinação ou não, todos demonstram uma taxa de eficiência para prevenção e controle das contaminações microbianas nas duas fases, tanto na desinfestação (quando o explante é introduzido no laboratório) como de estabelecimento in vitro (micropropagação).

Dentre todos antimicrobianos analisados, a cefotaxima que é utilizado na micropropagação apresentou uma eficiência de 73,33% no controle de bactérias, porém, é de alto custo e também pode ser fitotóxica em concentração maiores que 500mg/L em meio de cultura, mas, em contra partida, o hipoclorito de sódio popularmente conhecido como “água sanitária” que pode ser substituído neste caso, tanto na fase de desinfestação como durante a micropropagação, não adicionado no meio de cultura, mas podendo ser utilizado quando ocorre exposição dos microrganismos na superfície da planta, pois também é eficiente no controle microbianos e é de baixo custo, ou seja, ficara a critério dos laboratórios de cultura de tecido de plantas em optar pelo melhor custo benéficos dos produtos.

CONCLUSÃO

Apesar da cultura de tecido in vitro ser uma técnica avançada, ainda há poucos trabalhos publicados que falam sobre o uso de antimicrobianos na cultura da bananeira. Isso deve-se ocorrer, porque a banana é uma fruta que possui grande relevância socioeconômica, e muitos centros de pesquisas optam pela não divulgação dos protocolos alcançadas durante a pesquisa por questões de sigilos.

Contudo, é possível compreender através desta revisão de literatura que independente das espécies das bananas, quando se faz o cultivo in vitro das mesmas, é indispensável o uso de alguns antimicrobianos para a prevenção e controle microbianos tanto nas fases de desinfestação (introdução do laboratório) como estabelecimento (micropropagação), pois, ao contrário disto, os microrganismos podem se manifestar durante o cultivo e competir com as plantas os mesmo nutrientes contidos no meio de cultura podendo levar a morte das mesmas gerando grandes prejuízos aos laboratórios.

Diante do exposto, sugere a necessidade de novos trabalhos que aborde sobre o uso de antimicrobianos na cultura de tecido in vitro que possam ser utilizados durante o cultivo da banana a qual também favoreça o melhor custo benéfico aos laboratórios.