

EFEITOS DO BENOMYL E DA KASUGAMICINA NA PRODUÇÃO DA BATATA DOCE MICROPROPAGADA

BENOMYL AND KASUGAMYCIN EFFECTS ON THE PRODUCTION OF MICROPROPAGATED SWEET POTATO

Alcione da Silva ARRUDA¹; Carlos Ferreira DAMIÃO FILHO²; Vanessa Beatriz Monteiro Galassi SPINF³; Cristina Soares de SOUSA⁴; Sally Ferreira Blat MARCHIZELP³; José Everaldo GOMES²

RESUMO: O objetivo do presente trabalho foi avaliar o comportamento produtivo, em condições de campo, de propágulos de batata doce ‘Branca’ obtidos *in vitro* e submetidos a tratamentos prévios com Benlate (fungicida) e Hokko Kasumin (antibiótico-fungicida). Os tratamentos com os defensivos foram aplicados: a) nas plantas doadoras de explantes (experimento 1) e, b) adicionados ao meio de cultura de Murashige e Skoog (1962) (experimento 2). Em ambos experimentos, os tratamentos testemunhas consistiram no plantio de propágulos obtidos *in vitro* sem a aplicação dos defensivos e o plantio de mudas convencionais. Os experimentos foram instalados em blocos casualizados, com quatro repetições. Após 120 dias, as plantas foram colhidas e avaliadas quanto às características das ramas, dos tubérculos e das raízes não tuberizadas. Tais características, avaliadas nos tratamentos obtidos *in vitro*, de maneira geral não apresentaram diferenças significativas quando comparadas com as características observadas em plantas propagadas convencionalmente. De acordo com os resultados, os pré tratamentos não influíram significativamente na produção média de tubérculos.

UNITERMOS: *Ipomoea batatas*, Micropropagação.

INTRODUÇÃO

A batata doce é a terceira hortaliça mais consumida pela população brasileira, com um consumo *per capita* de 4,23 kg/ano e produção de 622.432 t/ano, segundo dados da Food and Agriculture Organization - FAO (1997). Nos últimos anos a cultura passou por uma fase crítica de rebaixamento da produtividade, perdendo em média 2 t/ha⁻¹, além de sofrer redução na área cultivada (MIRANDA et al., 1987). De acordo com França e Ritschel (2002), o controle químico das pragas da batata doce em anos recentes tem se mostrado inviável pelo alto custo dos agrotóxicos e a inexistência de produtos registrados para cultura. Desta forma, nos últimos 50 anos algumas práticas agrônômicas é que têm provado ser

eficientes no controle de pragas da cultura.

Em muitas espécies de propagação vegetativa como a banana, a mandioca, a batata e a própria batata doce, a qualidade da muda é de grande importância para o sucesso da cultura. É desejável que o material a ser propagado esteja isento de doenças transmissíveis pelos próprios propágulos, para que haja aumento na produtividade (BRAGA et al., 2001; COLOMBO et al., 2000; ROMANO et al., 2001; UTINO et al., 2001).

Sobre este aspecto, Robertson (1990) aponta um decréscimo de mais de 50% na produtividade de plantas anuais de propagação vegetativa ao final de 11 anos de cultivo, e a manutenção de baixas produtividades nos anos vindouros, quando são utilizados os propágulos da própria cultura anterior.

¹ Acadêmica do curso de Doutorado em Genética e Bioquímica. Instituto de Genética e Bioquímica. Universidade Federal de Uberlândia.

² Universidade Estadual Paulista – Depto. de Biologia Aplicada à Agropecuária, 14870-000 Jaboticabal, SP

³ Acadêmica do curso de Doutorado em Genética. Departamento de Genética e Matemática Aplicada à Biologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

⁴ Acadêmica. Curso de Mestrado em Agronomia. Instituto de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Uberlândia.

Email: asarruda@hotmail.com

Received: 09/10/02

Accept: 26/02/03

Em sistemas de cultura de tecidos de plantas, para a limpeza de fungos e bactérias endógenas no material a ser micropropagado, diversos pesquisadores têm utilizado o Benomyl (CHAKARSKA; ATANASSOV, 1997; DADWAL; SONI, 1986; LAGO, 1994; POLLOCK et al., 1983; SILVA et al., 1988) e, mais recentemente, outros pesquisadores (RATAI, 1988; RZAEVA, 1992; SAYGILI et al., 1996) têm utilizado o Cloridrato de Kasugamicina. De acordo com os resultados dos trabalhos citados, o uso de certos fungicidas e/ou antibióticos torna-se eficiente no controle da contaminação *in vitro*. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento produtivo da batata doce em condições de campo, utilizando-se propágulos obtidos *in vitro* e submetidos a pré tratamentos com o Benomyl e o Cloridrato de Kasugamicina.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em Jaboticabal/SP, que possui altitude média de 575m; e clima do tipo Cwb, mesotérmico úmido de verões quentes e chuvosos e invernos secos, no período de janeiro de 1998 a dezembro de 1999.

Foram utilizadas raízes tuberosas da batata doce 'Branca', adquiridas no comércio varejista de hortaliças em Jaboticabal/SP, tratando-as com solução de ácido giberélico na concentração de 50 mg.L⁻¹ durante duas horas, antes de acondicioná-las em recipientes individualizados (frascos de vidro com capacidade de 400 mL), nos quais o terço inferior das raízes tuberosas permaneceu imerso em água, até a formação de raízes e de parte aérea.

Aos 60 dias após o início das brotações, foram coletados explantes, os quais consistiram de nós caulinares retirados de nós do terço médio das ramas, com aproximadamente cinco milímetros de comprimento. Os explantes foram superficialmente esterilizados com soluções de álcool etílico 70% (v/v) e alvejante comercial, contendo hipoclorito de sódio 20% (v/v), sendo assépticamente transferidos aos meios de cultura em câmara de fluxo laminar.

Os produtos utilizados para tratamento das plantas doadoras de explantes (experimento 1) e inclusão no meio de cultura (experimento 2) foram o Benlate® TS 500 (fungicida) e o Hokko Kasumin® (antibiótico fungicida-bactericida), contendo 500 g.kg⁻¹ de Benomyl {Metil-1-(butilcarbamoil)-2-benzimidazol carbamato} e 20 g.L⁻¹ de Cloridrato de Kasugamicina (D-inositol e 2,4-diamino-2,3,4-tetradexoxi-D-arabinose), respectivamente.

No experimento 1, os tratamentos com ambos

os produtos foram feitos trocando-se a água, na qual as raízes encontravam-se imersas, por soluções de Benlate a 0,05% do ingrediente ativo e de Hokko Kasumin a 0,05% de ingrediente ativo, permanecendo durante cinco dias nestas soluções antes da retirada dos explantes; as plantas testemunhas permaneceram com as raízes imersas em água. A testemunha geral do experimento 1 consistiu no plantio de ramas pelo método convencional (pedaços de ramas com 3-4 gemas).

No experimento 2, ambos os produtos comerciais foram adicionados aos meios de cultura, nas doses de 100 mg.L⁻¹, após a esterilização dos meios de cultura e antes de sua completa solidificação, por meio de filtragem em filtro bacteriológico tipo "Millipore".

O meio de cultura consistiu da solução salina de Murashige e Skoog (1962), complementada com 100 mg.L⁻¹ de inositol; 0,5 mg.L⁻¹ de tiamina HCl; 80 g.L⁻¹ de sacarose e 5 mg.L⁻¹ de benzilaminopurina, com o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem. O meio de cultura foi semi solidificado com 0,8% de agar e cada alíquota de 20 mL foi acondicionada em frascos de cultura, com capacidade de 300 mL cada.

Após transferência dos explantes para o meio de cultura, sob condições assépticas, os recipientes contendo os mesmos foram conduzidos para sala de crescimento, com controle de fotoperíodo de 16 horas, iluminação com lâmpadas do tipo "Gro-Lux", fornecendo 2.10² calcm⁻²min⁻¹ (2500 lux) e temperatura controlada em 26 ± 3, permanecendo em tais condições durante 42 dias, em média para os dois experimentos, até a retirada das plântulas, com dois pares de folhas, dando-se início a sua aclimação *ex vitro*.

As raízes das plântulas retiradas dos recipientes de cultura, foram lavadas em água corrente retirando-se os remanescentes dos meios de cultura. Posteriormente, foi feita a repicagem de cada um dos propágulos individualizados para recipientes plásticos (sacos de polipropileno preto, com 300 ml de capacidade), contendo vermiculita. Na seqüência, os recipientes foram conduzidos em condições de ripado de madeira (50% de luz natural), com irrigações diárias (nebulização) durante 40 dias e, durante a semana final deste período, sem irrigação até o plantio.

A adubação de plantio foi realizada com 318 kg.ha⁻¹ de adubo na formulação 4-20-20, enquanto a de cobertura foi aplicado 30 kg.ha⁻¹ de sulfato de amônio.

Durante o período experimental em campo, de janeiro a maio de 1999, no primeiro e de agosto a dezembro de 1999, no segundo experimento, manteve-se turno de rega de dois dias, com lâmina de 10 mm, em irrigação por aspersão.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro tratamentos (três oriundos do cultivo *in vitro* e uma testemunha geral, consistindo do plantio de mudas convencionalmente utilizadas) e quatro repetições, com parcelas constituídas por três plantas, espaçadas de 80 cm entre linhas e 40 cm entre plantas.

Foram avaliadas as seguintes características: comprimento médio de ramos (cm), peso de matéria seca de ramos (g), área foliar (dm²), peso de matéria seca de folhas (g), comprimento médio de raízes tuberosas (cm), circunferência média de raízes tuberosas (cm), peso (g) de raízes tuberosas comerciais e não comerciais, segundo classificação de Reis et al. (1996) e número de raízes tuberosas produzidas por planta.

Para análise estatística os dados, exceto de peso de raízes tuberosas comerciais e não comerciais, foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e os efeitos dos tratamentos comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De maneira geral, observou-se que os procedimentos utilizados para a micropropagação da batata doce 'Branca' foram efetivos nos dois experimentos, permitindo a obtenção de propágulos capazes de se desenvolverem e de crescerem em condições de cultivo comercial em campo, tendo sido mantidas as características fenotípicas da espécie. Verificou-se, também, que o processo utilizado para a aclimação *ex vitro* das plântulas foi eficiente e permitiu a sobrevivência das plantas transplantadas.

Não houve diferenças significativas entre os tratamentos, em ambos experimentos, para comprimento e peso de matéria seca de ramos, área foliar, peso da matéria seca de folhas produzidas, e para comprimento, circunferência e peso das raízes tuberosas comerciais (Tabela 1 e 2). Não houve influência significativa entre os métodos de produção de mudas analisados, quando comparados com o plantio de mudas convencionais.

Tabela 1. Médias das características avaliadas na cultura da batata doce, em condições de campo no experimento 1. Jaboticabal, FCAV-UNESP, 1999.

Características Avaliadas*	Experimento 1					
	Test. Lab. (**)	Benomyl (**)	Kasugamicina (**)	Test. Geral (**)	C.V. (%)	Média
CMR	6,16A	5,91A	6,07A	6,09A	3,77	6,06
PMSR	23,88A	24,50A	26,51A	23,56A	8,14	24,61
AF	186,67A	189,87A	208,71A	184,54A	15,92	192,5
PMSF	17,28A	16,98A	16,42A	16,12A	11,03	16,70
CMRT	8,10A	7,56A	7,19A	6,81A	17,32	7,42
CFMRT	6,10A	6,53A	5,71A	6,30A	15,57	6,16
RC	27,76A	23,36A	23,00A	23,50A	21,13	24,40
RNC	31,93AB	30,90AB	32,94A	21,49B	16,22	29,31
NRC	3,16A	2,83AB	2,21B	2,88AB	15,12	2,77

* CMR, Comprimento médio de ramos (cm); PMSR, Peso de matéria seca de ramos (g); AF, Área foliar (dm²); PMSF, Peso de matéria seca de folhas (g); CMRT, Comprimento médio de raízes tuberosas (cm); CFMRT, Circunferência média de raízes tuberosas (cm); RC, Raízes comerciais (g); RNC, Raízes não comerciais (g); NRC, Número de raízes comerciais por planta.

** Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey 5% de probabilidade.

No primeiro experimento (Tabela 1), o tratamento com a Kasugamicina proporcionou maior peso de raízes não comerciais, mas reduziu o número de raízes comerciais por planta.

No segundo experimento (Tabela 2), nenhuma diferença foi observada entre todos as características analisadas.

Os altos coeficientes de variações podem estar relacionado com a pequena parcela experimental. Cecílio Filho et al. (1996), também não verificaram diferenças

significativas entre plantas propagadas convencionalmente daquelas que passaram pela limpeza clonal.

Assim, de acordo com os resultados obtidos nos dois experimentos e dentro das condições experimentais, pode-se concluir que o plantio de mudas micropropagadas de batata doce apresentam desempenho similar ao de mudas convencionais, quando cultivadas em campo, e que tratamentos com ambos os defensivos utilizados no presente trabalho não implicaram em melhorias no comportamento produtivo das mudas micropropagadas.

Tabela 2. Médias das características avaliadas na cultura da batata doce, em condições de campo no experimento 2. Jaboticabal, FCAV-UNESP, 1999.

Características Avaliadas*	Experimento 2					
	Test. Lab. (**)	Benomyl (**)	Kasugamicina (**)	Test. Geral (**)	C.V. (%)	Média
CMR	5,11A	5,10A	5,11A	5,07A	12,47	5,14
PMSR	25,74A	24,89A	23,91A	23,83A	12,58	24,59
AF	265,25A	271,70A	276,52A	262,05A	10,50	268,9
PMSF	19,46A	20,44A	19,36A	19,49A	7,43	19,69
CMRT	4,83A	6,86A	57,66A	5,77A	34,37	6,28
CFMRT	4,32A	6,65A	6,37A	4,90A	33,93	5,56
RC	15,37A	24,65A	25,98A	19,18A	37,93	21,30
RNC	19,44A	24,59A	25,98A	24,01A	28,32	23,51
NRC	2,08A	2,37A	3,22A	2,62A	38,27	2,57

* CMR, Comprimento médio de ramas (cm); PMSR, Peso de matéria seca de ramas (g); AF, Área foliar (dm²); PMSF, Peso de matéria seca de folhas (g); CMRT, Comprimento médio de raízes tuberosas (cm); CFMRT, Circunferência média de raízes tuberosas (cm); RC, Raízes comerciais (g); RNC, Raízes não comerciais (g); NRC, Número de raízes comerciais por planta.

** Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey 5% de probabilidade.

ABSTRACT: The present work, done in field conditions, had as objective to evaluate the productive behavior of sweet potato 'Branca' propagules obtained *in vitro*, previously submitted to Benlate (fungicide) and Hokko Kasumin (fungicide-bactericide antibiotic) treatments. The treatments with both defensives were applied: a) in the plants explants-donors (experiment 1) and b) added to the Murashige-Skoog (1962) culture medium (experiment 2). In both experiments, the control treatments consisted of *in vitro* field propagules cultivation without the previous defensive application and the conventional propagules plantation (shoot pieces). The experimental design was randomized blocks, with four replications. After a 120 day cycle, foliage, tuberous roots and non edible roots were evaluated. Such characteristics, in all treatments presented no statistical differences when compared with the characteristics observed in conventional plant propagation. In agreement with this results, the previous treatments didn't influenced significantly the tuberous root production.

UNITERMS: *Ipomoea batatas*, micropropagation.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAGA, M. F.; SÁ, M. E. L de.; MUSTAFÁ, P. C. Avaliação de um protocolo para multiplicação *in vitro* da bananeira (*Musa sp.*) cv. Caipira (AAA). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 215-219, ago. 2001.

CECÍLIO FILHO, A. B.; REIS, M. dos S.; SOUZA, R. J. de.; PASQUAL, M. Avaliação de cultivares de batata doce, submetidas à limpeza clonal, após três ciclos de cultivo no campo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 14, n. 1, p. 80, jul. 1996.

CHAKARSKA, D. D.; ATANASSOV, A. An optimal regeneration system for alfafa cultivars selected *in vitro* for *Fusarium* resistance. **Annals of Biology Ludhiana**, Hissar, v. 12, n. 1, p. 7-14, Jan. 1997.

COLOMBO, C.; SECOND, G.; CHARRIER, A. Genetic relatedness between cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and *M. flabellifolia* and *M. peruviana* based on both RAPD and AFLP markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 23, n. 2, p. 417-424, June. 2000.

DADWAL, V. S.; SONI, K. K. Uptake, translocation and persistence of benlate and bavistin in *Pinus caribaea* seedlings. **Indian Journal of Forestry**, Dehra Dun, v. 9, n. 2, p. 123-5, May 1986.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Soilles culture for horticultural crop production. Rome, 1997. 91 p. (FAO Plant Production and Protection Paper, 50).

FRANÇA, F. H.; RITSCHER, P. S. Avaliação de acessos de batata-doce para resistência à broca-da-raiz, crisomelídeos e elaterídeos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 20, n. 1, p. 79-85, mar. 2002.

LAGO, R. P. do. **Efeito da desinfecção de coroas de abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merrill) com Benomyl e cultivo in vitro de gemas axilares**. 1994. 49 f. Monografia (Conclusão do Curso de Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, 1994.

MIRANDA, J. E. C.; FRANÇA, F. H.; CARRIJO, O. A.; SOUZA, A. F. **Batata doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam)**. Brasília, DF: EMBRAPA/CNPq, 1987. 14 p. (Circular técnica, 3).

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiology Plant**, Copenhagen, v. 15, n. 15, p. 473-497, Apr. 1962.

POLLOCK, K.; BARFIELD, D. G.; SHIELDS, R. The toxicity of antibiotics to plant cell cultures. **Plant Cell Reports**, Florida, v. 2, p. 36-39, Dec. 1983.

RATAI, V. R. Testing of fungicides for the control of *Pyricularia oryzae*. **Novenyvedelem**, Hissar, v. 24, n. 12, p. 555-556, June 1988.

REIS, M. S.; SOUZA, R. J. de; CECÍLIO FILHO, A. B. A cultura de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). Lavras: UFLA, 1996. 19 p. (Boletim técnico).

ROBERTSON, I. Perspectives in plant cell and tissue culture in developing countries. In: Progress in plant cellular and molecular biology. Tunisia: Kluwer Academic, 1990. p. 810 - 817.

ROMANO, E.; FERREIRA, A. T.; DUSI, A. N.; PROITE, K.; BUSO, J. A.; ÁVILA, A. C.; NISHIJIMA, M. L.; NASCIMENTO, A. S.; BRAVO-ALMONACID, F.; MENTABERRY, A.; MONTE, D.; CAMPOS, M. A.; MELO, P. E.; CATTONY, M. K.; TORRES, A. C. Extreme resistance to two brazilian strains of *Potato virus Y* (PVY) in transgenic potato, cv. Achat, expressing the PVY^o coat protein. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 19, n. 2, p. 118-122, jun. 2001.

RZAEVA, S. I. Antibiotics against cucumber wht rot. **Zashchita Rastenii Moskva**, Oakland, v. 2, n.7, p. 25, Mar. 1992.

SAYGILI, H.; USTUN, N.; BONN, W. G. Studies on effectiveness of some chemicals to fire blight pathogen *Erwinia amylovora*. **Acta Horticulturae**, Beijing, v. 3, n. 411, p. 331-5, Jan. 1996.

SILVA, S. D. V. M.; PEREIRA, T. N. S.; LUZ, E. D. M. Propagação do guaraná *in vitro*. I. Seleção de fungicidas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 13, n. 13, p.183-185, mar/abr. 1988.

UTINO, S.; CARNEIRO, I. F.; CHAVES, L. J. Crescimento e oxidação de explantes da bananeira-prata (*Musa AAB*) *in vitro*. I. Concentrações de sais de ferro, cobre e zinco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 225-229, ago. 2001.