

Efeito de Concentrações de Sacarose e de Meio de Cultura (8S) sobre a Taxa de Crescimento de e Mandioca Cultivar Olho Roxo (BGM 0036) Conservadas *In Vitro*

Emerson Brito Ribeiro¹, Kamila Antunes Alves², Antonio Izzo Neto², Leandro Fernandes Andrade³, Nayara Norrene Lacerda Durães², Elisângela Kele Celestina Pereira Silveira⁴, Luciana Nogueira Londe⁵, Antônio da Silva Souza⁶

Resumo

A mandioca é uma cultura de grande na alimentação humana e animal, sendo que esta pode ser cultivada em várias regiões do país. Com o advento do melhoramento, diferentes cultivares foram desenvolvidas e, com isso, há uma necessidade tanto de manutenção destas quanto de multiplicação em larga escala das mesmas. O objetivo deste trabalho foi avaliar concentrações $\frac{1}{1}$, $\frac{1}{2}$ e $\frac{1}{4}$ de meio 8S combinados com diferentes doses de sacarose na taxa de crescimento de mandioca cultivada *in vitro*, avaliando-se altura de plantas, número de folhas vivas e mortas, número de ápices vivos e mortos e número de gemas. Os explantes apresentaram maior desempenho em meio de cultura com $\frac{1}{4}$ de 8S e uma concentração de $0,4 \text{ g.L}^{-1}$ de sacarose. Contudo, a taxa de sobrevivência para manutenção do material foi melhor quando utilizou-se o meio 8S em sua composição original, na concentração de $0,4 \text{ g.L}^{-1}$.

Introdução

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma dicotiledônea da família Euphorbiaceae e faz parte do gênero *Manihot*. Possui papel importante na alimentação humana e animal, pois é fonte de matéria prima para inúmeros produtos. De fácil adaptação, é cultivada em várias regiões do país, sendo que o Brasil possui a segunda posição na produção mundial de mandioca (12,7% do total), com uma receita bruta anual equivalente a 2,5 bilhões de dólares (ALVES & SILVA, 2003).

O melhoramento de plantas é responsável pelo aumento significativo da produção das principais culturas comerciais do mundo. A obtenção de variedades altamente produtivas e resistentes requer que seu material genético encontre-se disponível para multiplicação e uso. Segundo Silva *et al.* (1997) as coleções de germoplasma passam a ter papel fundamental nos programas de melhoramento.

Os elevados custos de manutenção, os riscos de perda por intempéries, pragas e enfermidades, tornam o banco de germoplasma *in vitro* um meio bastante atrativo (WITHERS, 1991).

Na cultura de tecidos, as concentrações de cada componente do meio de cultura são específicas para cada espécie. Várias modificações desses componentes são estabelecidas com o intuito de promover melhorias na conservação *in vitro* de plantas. Essas modificações visam, principalmente, à redução ou incremento de alguns componentes que podem promover um melhor crescimento em tecidos de mandioca. O cultivo *in vitro* e subsequente propagação é uma técnica atualmente bem estabelecida para diversas espécies e visa à propagação clonal, eliminação de vírus e conservação de germoplasma (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

Os níveis de sacarose no substrato de cultivo *in vitro* influenciam vários processos metabólicos nas culturas, apresentando efeito sobre o crescimento e diferenciação dos tecidos (LOPES *et al.*, 2005).

Esse trabalho teve como objetivo estudar o efeito de concentrações de sacarose e de meio de cultura na micropropagação *in vitro* de mandioca da coleção da EMBRAPA.

Material e Métodos

Foram utilizados como material vegetal ápice de vitroplantas de *Manihot esculenta* Crantz, com 1,0 cm – 1,5 cm de tamanho, cultivadas *in vitro* no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da EMBRAPA Mandioca e Fruticultura Tropical. Utilizou-se a variedade BGM 0036, denominada ‘Olho Roxo’, cuja principal área de cultivo encontra-se na região do semiárido nordestino.

¹Técnico em Química da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Email: britorib@hotmail.com; ²Graduandos em Agronomia pela Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES); ³Mestrando em Produção Vegetal no Semiárido pela UNIMONTES; ⁴Mestranda em Zootecnia pela UNIMONTES; ⁵Bióloga, D.Sc em Genética e Bioquímica, Pesquisadora da EPAMIG – Unidade Regional EPAMIG Norte de Minas; ⁶Engenheiro Agrônomo, D. Sc., pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Mandioca e Fruticultura Tropical, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais.

Os explantes foram estabelecidos em tubos de ensaio de 25 mm x 150 mm contendo 10 ml de três tipos de meio de cultura 8S ($\frac{1}{1}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$) e cinco concentrações de sacarose (0%, 1%, 2%, 4%, 8%). Os meios foram solidificados com Agar (8 g.L⁻¹) e pH ajustado a 5,7. As culturas foram incubadas sob fotoperíodo de 12 horas, intensidade de luz 700 lux e temperatura de 22 ± 2 °C.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 3x5, sendo três tipos de meios de cultura 8S e cinco níveis de sacarose, com 10 repetições para cada tratamento.

O experimento foi analisado em 14 dias, observando posteriormente a altura das plantas, número de folhas mortas e vivas, números de ápices mortos e vivos e número de gemas.

Resultados e Discussão

Nos tratamentos utilizados, houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre as concentrações de sacarose X meio de cultura, apresentando interação quando avaliados o número de ápices mortos e o número de folhas vivas e mortas.

Observou-se que a sacarose exerce grande influência no crescimento e desenvolvimento dos explantes, pois é uma fonte de carbono exógeno que, no meio de cultivo, serve como fonte de energia, influenciando na fisiologia da planta, diferenciação e crescimento dos tecidos, indução e diferenciação de órgãos, uma vez que estes nem sempre encontram condições adequadas de iluminação e concentração de CO₂ ou mesmo teores de clorofila suficiente para realizar fotossíntese que sustenta o crescimento (PEREIRA & MELO, 2004), como mostra a figura 1. O efeito da sacarose favoreceu o crescimento das plantas quando comparada com a testemunha, nas concentrações 0,2 e 0,8 mg.L⁻¹, contudo houve redução da altura quando elevou a concentração. Esse fenômeno corrobora com Dumet *et al.*, 1993, em que os agentes osmóticos, como sacarose, ao serem adicionados ao meio de cultura, atuam externamente, removendo o excesso da água intracelular, por gradiente osmótico, fazendo com que o crescimento da cultura ocorra de forma mais lenta.

A interação Meio X Sacarose em diferentes doses fez com que o número de folhas vivas tivesse melhores resultados com concentrações mais baixas de sacarose em função das três concentrações de meio MS (FIGURA 2 E 3), o que comprova o resultado de número de folhas mortas que obteve maior média com o aumento da concentração de sacarose. Segundo Souza (2006) dependendo das espécies não há necessidade de sacarose no meio. Somente o meio de $\frac{1}{2}$ 8S que foi antagônico aos demais resultados, porém ele não foi estatisticamente significativo.

Comparando-se os resultados das variáveis número de ápices vivos (NAV) e número de ápices mortos (NAM) (FIG.4 e 5), nota-se que entre as concentrações de sacarose 0,4 e 0,8 g.L⁻¹ há um efeito negativo na vitalidade dos ápices, sendo que os maiores perdas dos ápices para os três meios se encontra na especificamente na dose 0,8 g.L⁻¹.

Quando se observa o efeito das diferentes concentrações do meio 8S no desenvolvimento de explantes de mandioca, observa-se que o mesmo influenciou significativamente a altura das plantas, número de ápices vivos e gemas (TABELA 1), sendo os demais parâmetros indiferentes à concentração do meio. Isso ocorre porque a composição do meio de cultura contribuiu para o crescimento vegetal de modo que as combinações de sais minerais, vitaminas e reguladores de crescimento contribuíram para que o meio com $\frac{1}{4}$ de 8S apresentasse melhor desempenho no crescimento da planta e na produção de gemas, não apresentando a mesma performance no número de ápices vivos.

A combinação do meio de cultura 8S em $\frac{1}{4}$ combinado com uma concentração de sacarose de 0,4 g.L⁻¹ apresentou maior crescimento de plantas, número de folhas vivas e ápices vivos, além de apresentar menor índice de mortalidade de folhas e ápices. Contudo, quando se pensa na conservação do material vegetal *in vitro*, com redução de custos de manutenção na redução de repicagens e reagentes, observa-se que houve uma menor brotação sem perda de material quando utilizou-se o meio com $\frac{1}{1}$ de 8S aliado a concentração de 0,4 g.L⁻¹ de sacarose, com uma baixa taxa de mortalidade de folhas e ápices aliados a uma baixa brotação.

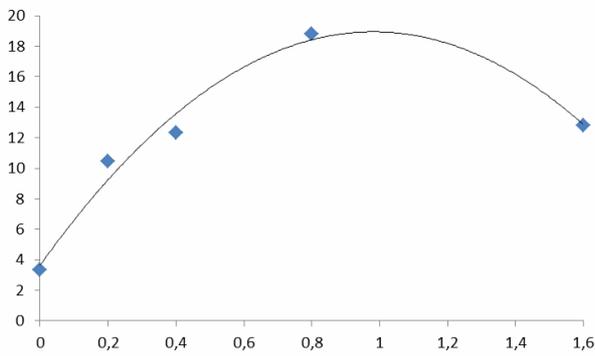


FIGURA 1- Efeito de doses de sacarose na altura de plantas de mandioca BGM 0036 (Olho Roxo). ($\bullet = -15,87x^2 + 31,155x + 3,6524$; $R^2 = 0,9741$)

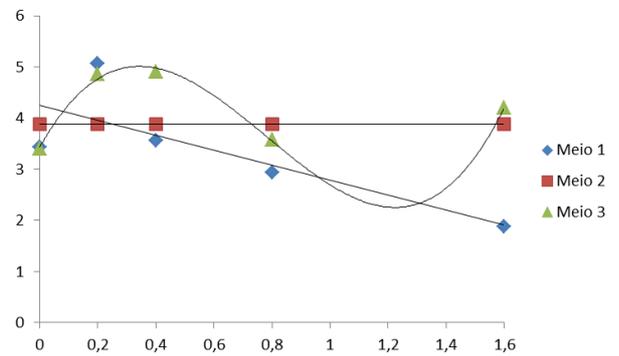


FIGURA 2- Efeito de doses de sacarose no número de folhas vivas de plantas de mandioca BGM 0036 (Olho Roxo) em função dos meios 1. ($\bullet = -1,4598x + 4,2484$; $R^2 = 0,6389$), meio 2. ($\bullet = 3,8828x^3$) e meio 3. ($\bullet = 8,0858x^3 - 18,995x^2 + 10,175x + 3,429$; $R^2 = 0,9923$).

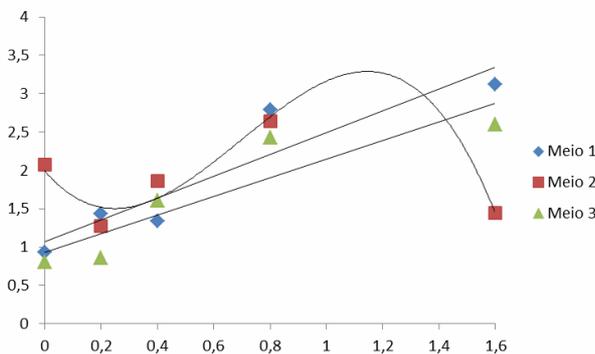


FIGURA 3- Efeito de doses de sacarose no número de folhas mortas de plantas de mandioca BGM 0036 (Olho Roxo) em função dos meios 1. ($\bullet = 1,4265x + 1,0664$; $R^2 = 0,8663$), meio 2. ($\bullet = -4,9711x^3 + 10,4x^2 - 4,2618x + 1,9958$; $R^2 = 0,8985$) e meio 3. ($\bullet = 1,2143x + 0,9286$; $R^2 = 0,8243$).

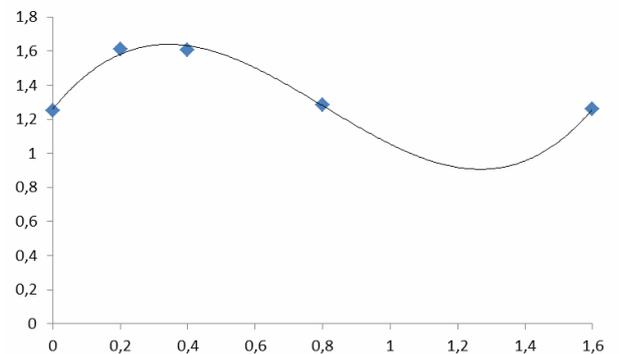


FIGURA 4- Efeito de doses de sacarose no número de ápices vivos de plantas de mandioca BGM 0036 (Olho Roxo). ($\bullet = 1,406x^3 - 3,2948x^2 + 1,5754x + 1,4142$; $R^2 = 0,9894$)

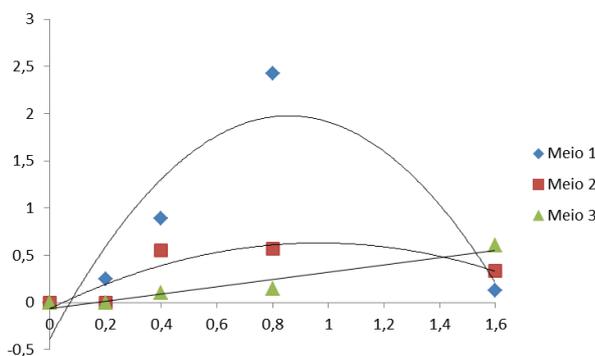


FIG5- Efeito de doses de sacarose no número de ápices mortos de plantas de mandioca BGM 0036 (Olho Roxo) em função dos meios 1. ($\bullet = -3,2063x^2 + 5,4985x - 0,3803$; $R^2 = 0,8377$), meio 2. ($\bullet = -0,7454x^2 + 1,4402x - 0,0652$; $R^2 = 0,7815$) e meio 3. ($\bullet = 0,3804x - 0,0596$; $R^2 = 0,9321$).

TABELA 1. Valores médios de altura de planta (AP), número de ápices vivos (NAV) e número de gemas (NG) de mandioca variedade BGM 0036 (Olho Roxo)

Meios	Variáveis		
	AP	NAV	NG
1	7,61 c	1,55 a	5,63 b
2	11,02 b	1,55 a	5,99 a b
3	16,02 a	1,10 b	6,86 a

Agradecimentos

Agradecimentos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, pelo apoio financeiro a publicação deste trabalho.

Referências

- Alves AAC, & Silva AF (2003) **Cultivo da Mandioca para a Região Semi-Árida**. EMBRAPA Mandioca e Fruticultura. Sistema de Produção. Disponível em: www.sistemadeproducao.cnptia.embrapa.br/mandioca. Acessado em: 18 de maio de 2011.
- Dumet, D; Engelmann, F.; Chabrilange, N.; Duval, Y.; Dereuddre, J. Importance of source for the acquisition of tolerance to desiccation and cryopreservation of oil palm somatic embryos. *Cryo-Letters*, London, n. 14, p. 243-250, 1993.
- Grattapaglia, D.; Machado, M. A. Micropropagação. In: Torres, A. C., Caldas, L. S.; Buso, J, A. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: EMBRAPA CNPH, 1998. v.1, p. 183-260.
- Lopes FS, Da Silva Folli M, Da Paschoa Queiroz R, Silva PA, De Souza Rabello W, Da Cruz LM, De Minas RS, Do Amaral JAT and Schimildt ER (2005) Efeitos de diferentes concentrações de sacarose no desenvolvimento *in vitro* *Laelia tenebrosa* Rolfe. **IX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e V Encontro Latino Americano de Pós-Graduação**. Universidade Vale do Paraíba, p. 584 - 585.
- Silva SO, Shepherd K, Dantas JLL, Souza AS and Carneiro MS (1997) Germoplasma. in: Alves EJ (org.) **A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. Embrapa-cnpmf, Brasília, p. 61-84.
- Souza, F.V.D; Costa, M.A.P.C.; Silva Neto, Pereira, H. **ACLIMATIZAÇÃO**. In: Souza, A. da S.; Junhans, T.G.. (Org.) **Introdução a micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: EMBRAPA Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006, v.1, p.131-140.
- Withers LA (1991) *In vitro* conservation. In: Hawkes JG (ed.) **Genetic conservation of world crop plants**. San Diego: Academic, p. 31-42.
- Pereira CD, Melo B (2004) Cultura de tecidos. In: Floriano EP **Produção de mudas florestais via assexuada**. UFU/ICIAG, Uberlândia, 37p. (Cadernos didáticos, n. 3)