

# EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO MEIO MS NA MICROPROPAGAÇÃO DA MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz)

Ádila Melo Vidal<sup>1</sup>; Antônio da Silva Souza<sup>2</sup> e Fernanda Vidigal Duarte Souza<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda em Ciências Agrárias - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, CEP: 44380-000. amelovidal@yahoo.com.br.

<sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Rua Embrapa, s/nº, Caixa Postal 007, Cruz das Almas, BA. assouza@cnpmf.embrapa.br.

<sup>3</sup>Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Rua Embrapa, s/nº, Caixa Postal 007, Cruz das Almas, BA. fernanda@cnpmf.embrapa.br.

## Introdução

A propagação da mandioca é feita vegetativamente por meio de estacas, o que ocasiona baixa produção devido ao envelhecimento fisiológico provocado pela constante multiplicação e à infestação por doenças que são transmitidas por sucessivas gerações (SILVA et al., 2002). A produção de material de plantio básico sadio e em números elevados é uma das grandes limitações para a expansão e um cultivo produtivo de mandioca (SOUZA et al., 2008).

A micropropagação pode ser uma alternativa interessante para contornar esse problema, uma vez que possibilita a multiplicação rápida de plantas em períodos de tempo e espaço físico reduzidos, e com qualidade fitossanitária (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998). Embora esta técnica seja utilizada para a multiplicação da mandioca, estudos que viabilizem e incrementem essas taxas tornam-se necessários. Dentre os fatores que podem influenciar a micropropagação *in vitro*, podemos citar os fatores externos como temperatura, umidade relativa, fotoperíodo, intensidade luminosa e fatores intrínsecos ao crescimento e desenvolvimento vegetativo dependentes das condições nutricionais do meio de cultivo e a aplicação de fitorreguladores.

Nas & Read (2004) relatam que a composição química do meio de cultura tem um papel importante no sucesso da propagação de plantas *in vitro*. Quando a composição do meio de cultura não está adequada podem ocorrer desordens fisiológicas e até a morte do tecido vegetal.

Ao utilizar 75% dos sais do MS na multiplicação de uma variedade de gérbera, SOUSA et al. (2006) obtiveram plântulas com excelente qualidade, enquanto aquelas produzidas na concentração de 50% apresentaram alto potencial para aclimatização. Dzazio et al. (2002), trabalhando com o porta-enxerto de videira '420 - A', testaram diferentes meios de cultura para o alongamento e multiplicação *in vitro* e observaram que o meio MS com a concentração normal de sais apresentou

resultados inferiores para comprimento de brotação principal, número de folhas do explante e porcentagem de gemas axilares brotados; o MS na metade da concentração foi o meio que propiciou os melhores resultados.

Diante deste contexto, este trabalho teve por objetivo estudar o efeito da concentração dos sais minerais e vitaminas do MS na micropropagação de genótipos de mandioca.

## **Material e Métodos**

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, BA. Como material vegetal, foram utilizadas microestacas contendo pelo menos uma gema apical ou lateral, extraídas de plantas estabelecidas *in vitro* de três acessos de mandioca oriundos do Banco Ativo de Germoplasma de Mandioca da Embrapa Mandioca e Fruticultura (Veada, Vassourinha I e Curimenzinha). Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio (25 x 150 mm) contendo 10 mL do meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) nas seguintes concentrações: 1/1 (concentração normal), 1/2 (metade da concentração normal) e 1/3 (terça parte da concentração normal). Como fonte alternativa dos reguladores vegetais, necessários para determinar o crescimento e o padrão de desenvolvimento dos sistemas de cultura *in vitro* de tecidos, foi utilizado o fitoestimulante o Stimulate<sup>®</sup>, cujos componentes ácido indolbutírico, cinetina e ácido giberélico, foram adicionados aos meios a 0,005 mg L<sup>-1</sup>, 0,001 mg L<sup>-1</sup> e 0,005 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Os meios de cultura foram ainda suplementados com 20 g L<sup>-1</sup> de sacarose, solidificados com 7 g L<sup>-1</sup> de ágar e pH ajustado em 5,7-5,8. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 3 (concentrações do meio de cultura MS) x 3 (genótipos), com 25 repetições por tratamento, onde cada repetição é constituída de uma planta por tubo.

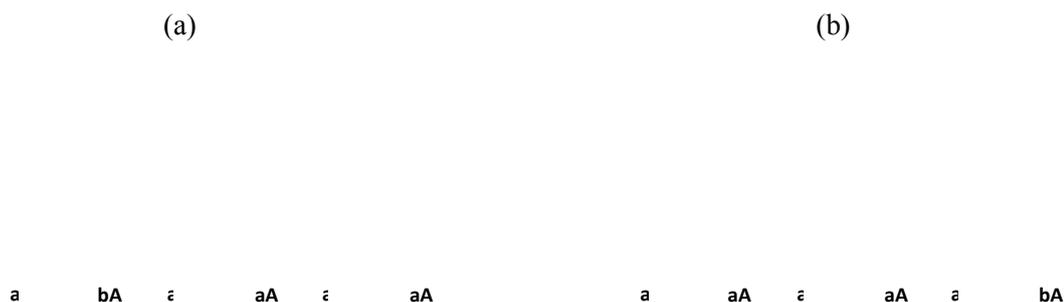
As culturas foram mantidas em sala de crescimento sob temperatura de 27±1°C, intensidade luminosa de 30 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas. Após 60 dias de cultivo foram consideradas as seguintes variáveis: número de folhas vivas (NFV), número de folhas mortas (NFM), número de hastes (NH), comprimento de hastes (CH; em cm) e número de microestacas (NM; com aproximadamente 1,2 cm).

## **Resultados e Discussão**

De acordo com os resultados obtidos, houve interação significativa entre os fatores estudados (concentração do meio MS x genótipo), para todas as variáveis analisadas, evidenciando que o efeito da concentração dos sais minerais e vitaminas do MS foi dependente do genótipo.

Dentre os genótipos avaliados, verificou-se que as maiores médias para NFV foram obtidas no genótipo Veada, quando os sais e vitaminas do MS estavam presentes no meio de cultura em sua concentração total (M1), indicando que quanto mais alta essa concentração maior o número de folhas (Figura 1a). Esses resultados estão de acordo aos obtidos por Villa et al. (2005) e Ribeiro et al. (2007), que alcançaram respostas semelhante em estudos com amoreira-preta e manjerição roxo, respectivamente. Para os demais genótipos não houve diferença significativa no NFV quando se utilizou um dos meios de cultura. Neste caso, fica claro o efeito do genótipo de mandioca no desenvolvimento das plantas, tornando-se necessária a adequação específica de condições de cultivo para cada genótipo. Neste sentido, Broomes & Lacon (1994) recomendam que sejam testadas modificações nas concentrações de sacarose, nitrogênio e reguladores de crescimento do meio de cultura, de forma a adequá-lo para o genótipo de mandioca.

Quanto ao NFM, as maiores perdas foram registradas nas plantas de ‘Curimenzinha’ cultivadas no M1. Já nas variedades Veada e Vassourinha I, independente do meio de cultura, não houve diferença significativa quanto à perdas de folhas (Figura 1b).



**Figura 1.** (a) - Número de folhas vivas, (b) - Número de folhas mortas em três genótipos de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) cultivados sob diferentes concentrações do meio MS. Médias seguidas da mesma letra minúscula dentro de cada genótipo e maiúscula entre cada concentração do meio MS não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para a variável número de hastes, não houve diferença entre os meios M1, M2 e M3 nos genótipos Veada e Vassourinha I. Em contrapartida, ‘Curimenzinha’ apresentou maior número de hastes quando cultivado em meio contendo a metade ou um terço das concentrações do MS, respectivamente, M2 e M3 (Figura 2a). A redução das concentrações do MS mostrou diferentes respostas em relação aos três genótipos estudados. No que diz respeito ao comprimento de hastes, o meio de M1 proporcionou melhores resultados no genótipo Curimenzinha com uma média de 16,57 cm. Dentre os genótipos, Veada apresentou menores valores de comprimento de hastes quando cultivados nos meios M2 e M3, com respectivamente, 7,59 cm e 6,28 cm. Para ‘Vassourinha I’, que

apresentou um crescimento intermediário em relação às outras variedades, não houve diferença nos resultados, ao se utilizar o meio M1 e M2 (Figura 2b).



**Figura2.** (a) - Número de hastes, (b) – Comprimento de hastes em três genótipos de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) cultivados sob diferentes concentrações do meio MS. Médias seguidas da mesma letra maiúscula para o fator genótipo e minúscula para concentração do meio MS não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação ao NM, observa-se que os três genótipos selecionados apresentaram o mesmo comportamento da variável comprimento de hastes, ou seja, em ‘Veada’ e ‘Curimenzinha’ a redução dos sais e vitaminas do MS proporcionou uma diminuição no número de microestacas, enquanto o MS completo favoreceu ao maior número com 6,44 e 5,12, respectivamente. Já para ‘Vassourinha I’ não

bA cB aA aAB bA abA

houve diferença significativa entre os meios utilizados (Figura 3).

**Figura 3.** Número de microestacas em três genótipos de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) cultivados sob diferentes concentrações do MS. Médias seguidas da mesma letra maiúscula para o fator genótipo e minúscula para concentração do meio MS não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

No geral o desenvolvimento *in vitro* das plantas apresentou comportamento bastante variado, demonstrando o efeito do genótipo. Diversos autores têm relatado esse efeito para muitas culturas, provando que o potencial de regeneração não depende somente da composição do meio de cultura e dos diferentes reguladores de crescimento, mas também das diferenças no componente genético, que controla o potencial morfogenético dos genótipos (NOGUEIRA et al., 2001).

### **Conclusões**

Os genótipos de mandioca estudados apresentam diferentes respostas quando submetidos aos diferentes meios de cultivo.

Independentemente do genótipo, a redução do MS à metade proporciona o maior número de hastes.

O meio de cultura MS completo proporciona maiores comprimento de hastes e número de microestacas nos genótipos Curimenzinha e Veada, respectivamente.

### **Referências**

- BROOMES, V. F.; LACON, R. Influence of medium components on hardening of cassava after micropropagation in liquid nutrient medium. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC MEETING ON CASSAVA BIOTECHNOLOGY NETWORK, 2., Bogor, 1994. **Proceedings...** Bogor: Cassava Biotechnology Network, 1994. p.210-219.
- DZAZIO, P. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F. Micropropagação do porta-enxerto de videira '420-A'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, p.759-764, 2002.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI; Embrapa-CNPq, 1998. v. 1, p. 183-260.

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

NOGUEIRA, F. T. S.; COSTA, M. G.; FIGUEIRA, M. L.; OTONI, W. C.; FINGER, F. L. Regeneração *in vitro* de plantas de tomateiros 'Santa Clara' e seu mutante natural 'Firme'. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 1, p. 63-71, 2001.

NAS, M. N.; READ, P. E. A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher plants and micropropagation of hazelnuts. **Scientia Horticulturae**, v. 101, p. 189-200, 2004.

RIBEIRO, M. de F.; DONINI, L.; P. SOUZA, J. A.; GUISSO, A. P.; FERREIRA-MOURA, I.; BOBROWSKI, V. L.; VIÉGAS, J. Influência de diferentes concentrações de sais de MS e açúcares no cultivo *in vitro* de manjeriço roxo (*Ocimum basilicum* L.). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 57-59, 2007.

SILVA, M. N. da; CEREDA, M. P.; FIORINI, R. A. Multiplicação rápida de mandioca. In: CEREDA, M. P. (Coord.). **Agricultura: tuberosas amiláceas Latino Americanas**. 1 ed. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. p. 187-197. (Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, v. 2).

SOUSA, C.; M.; SANTOS, R.; P.; MIRANDA, R. M. Otimização da concentração dos sais do meio MS na propagação *in vitro* de gérbera, var. 'ornela'. **Agronomia**, v. 40, p. 52-58, 2006.

SOUZA, A. da S.; SOUZA, F. V. D.; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; JUNGHANS, T. G.; SILVA NETO, H. P. da. **Micropropagação da mandioca mediante ápices caulinares e segmentos nodais**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2008. 12 p. (Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Circular Técnica, 88).

VILLA, F.; ARAÚJO, A. J.; PIO, L. A. S.; PASQUAL, M. Multiplicação *in vitro* da amoreira-preta 'Ébano' em diferentes concentrações de meio MS e BAP. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, p. 582-589, 2005.