



INFLUÊNCIA DA INTERAÇÃO DE ACESSOS E MEIOS DE CULTURA NA MICROPROPAGAÇÃO DA MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz)

Emanuela Barbosa Santos¹, Karen Cristina Fialho dos Santos², Antônio da Silva Souza³, Honorato Pereira da Silva Neto⁴, Mariane de Jesus da Silva de Carvalho⁵, Maria Inês de Souza Mendes⁶

¹Graduanda do curso de Agronomia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA. Email: emanuela_bs@hotmail.com

²Analista da *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Caixa Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas, BA. E-mail: karen.fialho@embrapa.br

³Pesquisador da *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Caixa Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas, BA. Email: antonio.silva-souza@embrapa.br

⁴Mestrando em Recursos Genéticos Vegetais, *Universidade Federal do Recôncavo da Bahia/UFRB*, 44.380-000, Cruz das Almas-BA, Brasil. E-mail: honopsn@yahoo.com.br

⁵Doutoranda em Ciências Agrárias - *Universidade Federal do Recôncavo da Bahia*, Cruz das Almas, BA, CEP: 44380-000. E-mail: marianejs@yahoo.com.br.

⁶Bacharel em Biologia pela *Universidade Federal do Recôncavo da Bahia*. E-mail: inessm.123@gmail.com

Introdução

A mandioca é considerada a quarta fonte mais importante de carboidratos nos trópicos, portanto de grande importância na alimentação humana e animal. Propagada vegetativamente a partir de manivas, a multiplicação em campo, além de muito lenta, pode disseminar várias doenças, principalmente as sistêmicas, o que pode diminuir a qualidade do material cultivado. A produção de material de plantio básico sadio e em números elevados é uma das grandes limitações para a expansão e produção de mandioca (SOUZA et al., 2008). A partir disso, diversas técnicas de cultura de tecidos têm sido desenvolvidas de maneira a superar as limitações encontradas pelo melhoramento convencional, destacando-se entre elas a micropropagação para a produção de material propagativo sadio. A micropropagação também representa o resgate de variedades de importância regional por meio de sua limpeza e a conservação de uma parte importante de seu germoplasma (SOUZA et al., 2006a).

A cultura da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) apresenta grande variabilidade quanto à resposta morfo genética *in vitro*, em função do genótipo que pode ser diferenciado em demandas nutricionais e condições de cultivo distintas, necessitando de estudos específicos visando maximizar os processos de regeneração *in vitro*. Além disso, NAS E 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. Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a interação de acessos de mandioca e de meios de cultura em um processo de micropropagação.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Mandioca e Fruticultura, onde foram utilizados como material vegetal, microestacas com ápices de 1,0 cm - 1,5 cm de tamanho dos acessos BGM 298 (CM-424/10), 491 (Veada), 520 (Vassourinha I) e 611 (Curimenzinha), previamente cultivadas *in vitro*. Os meios de cultura utilizados para condução do experimento foram o 17N (CIAT, 1982), o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), o MS/2 e o MS/3 solidificados com 7 g.L⁻¹ de ágar e pH ajustado a 5,8 antes da autoclavagem.

O meio 17N é composto por 1/3 dos sais minerais do MS, 1 mg. L⁻¹ de tiamina, 100 mg. L⁻¹ de inositol e 0,01 mg. L⁻¹ de ANA e AG₃. Já os meios MS, MS/2 e MS/3 são formados pelos sais minerais e vitaminas do MS, respectivamente na concentração normal, na metade e um terço dela. Esses três meios de cultura foram suplementados com 0,01 mg. L⁻¹ de ANA, BAP e AG₃. Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio de 25 mm x 150 mm contendo 10 mL de meio de cultura, os quais foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 27 ± 1° C, densidade de fluxo de fótons de 30 μmol. m⁻² e fotoperíodo de 16 horas durante 60 dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 (acessos de mandioca) x 4 (meios de cultura) com número de repetições variando entre 12 e 50, a depender do tratamento utilizado. As avaliações do experimento foram realizadas observando-se as variáveis: comprimento da maior haste (CMH) em cm, número de microestacas apicais (NMA), número de microestacas laterais (NML) e número de raízes aéreas (NRA). As variáveis número de comprimento da maior haste, número de microestacas apicais, laterais e número de raízes aéreas foram transformadas por $\sqrt{x + 0,5}$ para atendimento das pressuposições da análise de variância. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e as análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico SAS – Statistical Analysis System (Sas Institute, 2004).

Resultados e Discussão

A interação acessos x meio de cultura foi significativa para todas as variáveis, exceto para NMA, onde houve efeito significativo dos fatores isolados. Observou-se uma variação de 18,42% a 58,69% nos CV's para NMA e NRA, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância do comprimento da maior haste (CMH), em cm, número de microestacas apicais (NMA), número de microestacas laterais (NML) e número de raízes aéreas (NRA) com a interação do meio de cultura e acessos de mandioca na micropropagação.

FV	GL	QM			
		CMH	NMA	NML	NRA
Genótipo	3	7,75 **	1,84 **	2,24 **	50,26**
Meio	3	20,56 **	2,34 **	21,13 **	0,38 ^{ns}
Genótipo x Meio	9	3,38 **	0,13 ^{ns}	2,33 **	3,28 **
Erro	561	0,74	0,07	0,48	0,77
C.V (%)		24,07	18,42	28,8	58,69
Média Geral		13,12	1,77	5,9	2,80

** significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F e ns não significativo a 5% de probabilidade.

Independente do acesso, valores máximos do comprimento da maior haste foram obtidos com a concentração normal do MS. Nesse meio de cultura o BGM 491 apresentou menor comprimento da maior haste (13,16 cm), diferindo estatisticamente dos demais acessos. Entre os acessos, para esse mesmo meio de cultura, o que mais se destacou nessa variável foi o BGM 520 (20,82 cm) (Tabela 2). Já o acesso BGM 298 apresentou o menor valor (8,56 cm) cultivado no meio 17N.

Tabela 2. Comprimento da maior haste (cm) em função da interação de acessos de mandioca micropropagados em vários meios de cultura.

Acessos	Meios de cultura			
	17N	MS/3	MS/2	MS
298	8,56 b C	10,14 b BC	11,82 b B	18,25 a A
491	10,55 ab A	9,87 b A	11,56 b A	13,16 b A
520	11,07 ab B	14,39 a AB	19,57 a A	20,82 a A
611	14,46 a BC	11,90 ab C	15,94 a AB	18,78 a A

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O meio de cultura MS diferenciou-se dos demais e apresentou maior média (2,83 cm) do NMA, enquanto os meios de cultivo 17N e MS/3 não diferenciaram significativamente entre si (Tabela 3), o que pode ser explicado por possuírem as mesmas concentrações de macronutrientes, micronutrientes e vitaminas.

Tabela 3. Número de microestacas apicais em função dos meios de cultura empregados na micropropagação de variedades de mandioca.

Meios de cultura	NMA
17N	1,48 c
MS/3	1,48 c
MS/2	1,84 b
MS	2,83 a

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Ainda para número de microestacas apicais, considerando a média em função dos acessos utilizados, observou-se que resultados superiores foram obtidos para o BGM 611 (2,18 cm) e BGM 298 (1,88 cm) (Tabela 4).

Tabela 4. Número de microestacas apicais em função de acessos de mandioca multiplicadas *in vitro* em vários meios de cultura.

Acessos	NMA
298	1,88 ab
491	1,35 c
520	1,62 bc
611	2,18 a

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Para a variável número de microestacas laterais, o meio de cultura MS também apresentou comportamento superior em relação aos demais, enquanto o meio 17N mostrou os menores valores para essa variável (Tabela 5). O acesso que apresentou os menores números de microestacas laterais foi o BGM 298, exceto quando cultivado no meio MS.

Tabela 5. Número de microestacas laterais em função dos acessos e meios de cultura utilizados na micropropagação da mandioca.

Acessos	Meios de cultura			
	17N	MS/3	MS/2	MS
298	2,86 b C	3,42 b BC	4,54 b B	9,56 a A
491	4,16 ab B	4,88 ab AB	6,20 ab A	7,16 b A
520	4,36 ab B	6,00 a AB	7,83 a A	9,80 a A
611	6,02 a BC	4,92 ab C	7,57 a AB	9,06 ab A

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação à presença de raízes aéreas, elas surgem nas gemas mais próximas da base da planta, inviabilizando-as para dar origem a um novo indivíduo. Observou-se, então, que no acesso BGM 298 ocorreu a menor formação de raízes aéreas em todos os meios de cultura (Tabela 6), o que pode ser uma consequência do efeito do genótipo.

Tabela 6. Número de raízes aéreas em função dos acessos e meios de cultura utilizados na micropropagação de mandioca.

Acessos	Meios de cultura			
	17N	MS/3	MS/2	MS
298	0,34 b A	0,46 c A	0,52 b A	1,20 b A
491	1,84 b A	1,88 bc A	0,10 b B	1,34 b AB
520	5,64 a AB	4,50 a AB	8,92 a A	4,00 b B
611	4,75 a BC	3,56 ab C	5,95 a AB	7,97 a A

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As diferenças entre os dados obtidos nesse trabalho, quando comparado a outros de mesma natureza, podem ser decorrentes da especificação dos meios de cultura para cada espécie, uma vez que diferentes combinações de carboidratos, sais minerais, vitaminas e reguladores vegetais estimulam ou não o crescimento de células, órgãos, tecidos e consequentemente o desenvolvimento da planta (GEORGE et al., 2008).

Conclusões

O meio de cultura MS em sua concentração normal é o mais indicado para a micropropagação dos acessos de mandioca BGM's 298, 491, 520 e 611.

Agradecimentos

Agradeço à FAPESB pelo auxílio financeiro imprescindível para realização do presente trabalho e à Embrapa Mandioca e Fruticultura pela concessão do local, Laboratório de Cultura de Tecidos, onde foi conduzido o experimento.

Referências

CIAT. **El cultivo de meristemas para el saneamiento de clones de yuca**; unidad audiotutorial. Cali, 1982. 45 p. (CIAT. Guia de Estudio. Serie 045C-02.05).

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; DE KLERK, GEERT-JAN. **Plant Propagation by Tissue Culture**, 3rd edition, V.01, The Netherlands, 501 p. 2008.

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

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.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: statistic: version 9.1.3. Cary: SAS Institute, 2004. 846 p.
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. Embrapa: Cruz das Almas, 2008. 11 p. (Embrapa Mandioca e Fruticultura. Circular Técnica 88).

SOUZA, A. da S.; JUNGHANS, T. G.; JUNGHANS, D. T.; MENDES, R. A.; MONTARROYOS, A. V. V. Cultura de tecidos em mandioca: técnicas e aplicações. In: SOUZA, L. da S.; FARIAS, A. R. N.; MATTOS, P. L. P de; FUKUDA, W. M. G. (Eds.). **Aspectos socioeconômicos e agrônômicos da mandioca**. Cruz das Almas - BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006, p. 364-432.