Efeito de Concentrações de Sacarose e de Meio de Cultura (8S) Sobre a Taxa de Crescimento de Mandioca Variedade BGM 0555 Conservadas *In Vitro*

<u>Mário Henrique Melo e Lima¹</u>, Kamila Antunes Alves², Antonio Izzo Neto³, Antônio da Silva Souza⁴, Cristina Meira de Jesus⁵ Leandro Fernandes Andrade⁶ Luciana Nogueira Londe⁷.

Resumo

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma das mais importantes culturas para produção de alimentos no mundo. A conservação de germoplasma torna-se indispensável. Portanto o presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito de concentrações de sacarose e de meio de cultura sobre a taxa de crescimento de plantas de mandioca variedade 0555 conservadas *in vitro*. Foram utilizados como material vegetal ápices de vitroplantas de mandioca. A variável altura de plantas apresentou resultados significativos para os diferentes tipos de meio e os níveis de sacarose, apresentando valores maiores no estabelecimento com meio 2 sobre concentrações de 0,8 g de sacarose. Quando avaliou-se o número de folhas mortas nas diferentes concentrações de sacarose, observou-se um efeito quadrático, sendo que há aumento no número de folhas mortas com o incremento de sacarose até a concentrações de sacarose. Da mesma forma observou-se o número de folhas vivas sobre diferentes concentrações de sacarose, onde níveis menores apresentaram resultados melhores, inclusive na ausência da sacarose, não justificando sua utilização. As diversas composições estabelecidas do meio de cultura não apresentaram diferença estatística significativa. Houve diferença significativa entre todos os níveis de meio e concentrações de sacarose para o número de gemas. O maior número de gemas foi observado sobre efeito de doses de 0,8 g de sacarose nos diferentes tipos de meio. A interação meio x sacarose em diferentes níveis apresentou maior número de ápices mortos.

Introdução

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma das mais importantes culturas para produção de alimentos no mundo. A mandioca é cultivada em todo país, sendo que o Brasil é o segundo maio produtor mundial (12,7% do total), com uma receita bruta anual equivalente a 2,5 bilhões de dólares. (Alves and Silva 2003).

Por ser uma cultura de relevante importância, o melhoramento genético se torna imprescindível para obtenção de cultivares mais significativas e resistentes, promovendo com isso um aumento de produção. Visando o desenvolvimento de novas variedades ou até mesmo a recuperação de certas espécies, a conservação de germoplasma torna-se indispensável. 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).

Outro aspecto importante na conservação de germoplasma é o tipo de meio de cultura, assim como concentrações de seus componentes, onde as plantas serão estabelecidas. Na cultura de tecidos, as concentrações de cada componente do meio de cultura são específicos para cada espécie. Varias modificações desses

¹Engenheiro Agrônomo, mestrando em Zootecnia pela UNIMONTES, Avenida Reinaldo Viana, 2630, C.P 91. Bico da Pedra, CEP: 39 440-000. E-mail: mhenriquelima@hotmail.com

²Graduanda em agronomia pela Universidade Estadual de Montes Claros – UNIMONTES, Avenida Reinaldo Viana, 2630, C.P 91. Bico da Pedra, CEP: 39 440-000. E-mail: kamiladavid@yahoo.com.br

³Graduando em agronomia pela Universidade Estadual de Montes Claros – UNIMONTES, Avenida Reinaldo Viana, 2630, C.P 91. Bico da Pedra, CEP: 39 440-000. E-mail: ain.izzo@hotmail.com

⁴Engenheiro Agrônomo D. Sc., pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais. E-mail: assouza@cnpmf.embrapa.br

⁵Graduanda em agronomia pela Universidade Estadual de Montes Claros – UNIMONTES, Avenida Reinaldo Viana, 2630, C.P 91. Bico da Pedra, CEP: 39 440-000. E-mail: crisiraj@hotmail.com

⁶Engenheiro Agrônomo, mestrando em produção vegetal no semi-árido pela UNIMONTES, Avenida Reinaldo Viana, 2630, C.P 91. Bico da Pedra, CEP: 39 440-000. E-mail: leandrofean@hotmail.com

⁷Bióloga D. Sc., pesquisadora da Epamig, Laboratório de Biotecnologia, Nova Porteirinha – MG. E-mail: llonde@hotmail.com

componentes são estabelecidas com intuito promover melhorias na conservação *in vitro* de plantas. Essas modificações visam principalmente a redução ou incremento de alguns componentes que podem promover um melhor crescimento em tecidos de mandioca. 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)

Portanto o presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito de concentrações de sacarose e de meio de cultura sobre a taxa de crescimento de plantas de mandioca variedade 0555 (Izabel de Souza) conservadas *in vitro*.

Material e Métodos

Foram utilizados como material vegetal ápices 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. A variedade usada foi a BGM 0555 (Izabel de Souza) cultivada, respectivamente, nas seguintes regiões: semi-árido do Nordeste, cerrado de Minas Gerais, Recôncavo Baiano, Trópico úmido e Sul.

Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio de 25 mm x 150 mm contendo 10 ml de três tipos de meio de cultura 8S ($^1/_1$. $^1/_2$ e $^1/_4$ do meio 8S) e cinco níveis de sacarose (0,0; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 g.L $^{-1}$). Os meio foram solidificados com Agar (8 g/L) e pH ajustado a 5,7. As culturas foram incubadas sob fotoperíodo de 12 horas, intensidade de luz 700 lux e temperatura de 22 \pm 2 °C.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 3x5, sendo três tipos de meio de cultura (8S) e cinco níveis de sacarose, com 10 repetições para cada tratamento. As avaliações do experimento foram posteriormente realizadas observando-se a altura e desenvolvimento das plantas sobre o meio de cultura onde foram estabelecidas.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste F a 5% de probabilidade pelo software estatístico Sisvar (FERREIRA, 2008). Quando as variáveis apresentaram diferenças significativas, os níveis de sacarose foram estudados por regressão enquanto que as composições de meio foram estudados por testes de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A variável altura de plantas apresentou resultados significativos para os diferentes tipos de meio e os níveis de sacarose, apresentando valores maiores no estabelecimento com meio 2 sobre concentrações de 0,8 g de sacarose, porém, a variável apresentou decréscimo significativo com o aumento das doses de sacarose sobre o meio 1. Considerando que a elevada pressão osmótica reduz o crescimento das plantas e afeta o metabolismo celular (Caldas et al., 1998), o aumento da concentração de sacarose no meio de cultura provavelmente promoveu um efeito depressivo no metabolismo das plântulas. (Figura 1.)

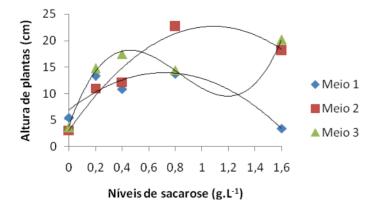


Figura 1: Efeito de doses de sacarose na altura de plantas de mandioca variedade BGM 0555 (Izabel de Souza) em função dos meios $1(\bullet = -13,583x^2 + 19,532x + 6,8768; R^2 = 0,8375)$, meio $2(\bullet = -16,59x^2 + 36,076x + 3,0273; R^2 = 0,9506)$ e meio $3(\bullet = 43,318x^3 - 107,59x^2 + 71,449x + 3,8391; R^2 = 0,9955)$.

Quando avaliou-se o número de folhas mortas nas diferentes concentrações de sacarose, observou-se um efeito quadrático, sendo que há aumento no número de folhas mortas com o incremento de sacarose até a concentração de 1,04 g de sacarose, havendo uma ação antagônica em concentrações superiores a esta, como pode-se observar figura 2.

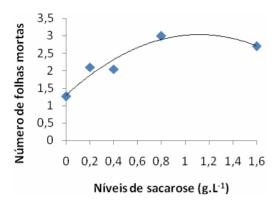


Figura 2: Efeito de doses de sacarose no número de folhas mortas de plantas de mandioca variedade BGM 0555 (Izabel de Souza) ($\bullet = -1,3779x^2 + 3,0782x + 1,3073$; $R^2 = 0,9195$).

Da mesma forma observou-se o número de folhas vivas sobre diferentes concentrações de sacarose, onde níveis menores apresentaram resultados melhores, inclusive na ausência da sacarose, não justificando sua utilização. Segundo Dumet et al.,1993, os agentes osmóticos, como sacarose, dentre outros, ao serem adicionados ao meio de cultura, atuam externamente, removendo o excesso da água intracelular, por gradiente osmótico, fazendo com que o desenvolvimento da cultura ocorra de forma mais lenta. As diversas composições estabelecidas do meio de cultura não apresentaram diferença estatística significativa (Tabela 1), porém, o meio 1 apresentou valores mais expressivos sobre o número de folhas vivas e ápices vivos.

Tabela 1: Efeito de diferentes composições de meios de cultura para o número de ápices vivos, número de folhas vivas e número de folhas mortas.

Variáveis						
NAV			NFV	NFM		
1	1,48	b	4,93	a	1,75 a	
2	1,39 a	b	4,34	a	2,73	b
3	1,13 a		4,55	A	2,04 a	b
		NAV 1 1,48 2 1,39 a	NAV 1 1,48 b 2 1,39 a b	NAV NFV 1 1,48 b 4,93 2 1,39 a b 4,34	NAV NFV NFM 1 1,48 b 4,93 a 2 1,39 a b 4,34 a	NAV NFV NFM 1 1,48 b 4,93 a 1,75 a 2 1,39 a b 4,34 a 2,73

Houve diferença significativa entre todos os níveis de meio e concentrações de sacarose para o número de gemas. O maior número de gemas foi observado sobre efeito de doses de 0,8 g de sacarose nos diferentes tipos de meio, apresentando também decréscimo nesse número com o estabelecimento do meio 1 sobre níveis maiores de sacarose, porém não ocorreu grandes variações decorrentes das concentrações de sacarose.

A interação meio x sacarose em diferentes níveis apresentou maior número de ápices mortos, tanto em meio 1 quanto em meio 2 em concentrações de 0,4 g de sacarose. O meio 3 apresentou números extremamente baixos de ápices mortos nas diversas concentrações, demonstrando seu excelente desempenho para essa variável. Figura 4.

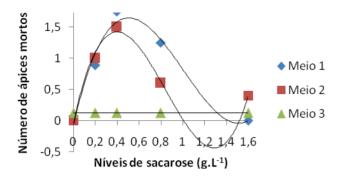


Figura 4: Efeito de doses de sacarose no número de ápices mortos de mandioca variedade BGM 0555 (Izabel de Souza) em função dos meios $1(\bullet = 3,3138x^3 - 10,023x^2 + 7,5916x - 0,063; R^2 = 0,9704)$, meio $2(\bullet = 5,2626x^3 - 13,315x^2 + 8,1005x - 0.032; R^2 = 0.9861)$ e meio $3(\bullet = 0.12^{ns})$.

Agradecimento

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

Referências

Alves AAC and 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.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI / Embrapa - CNPH, v. 2, p. 87-132, 1998.

DUMET, D; ENGELMANN, F.; CHABRILLANGE, N.; DUVAL, Y.; DEREUDDRE, J. Importance of sourse for the acquisition of tolerance to desiccation and cryopreservation of oil palm somatic embryos. Cryo-Letters, London, n. 14, p. 243-250, 1993.

Ferreira DF (2008) Sisvar: um programa para análises estatísticas e ensino de estatística. **Revista Symposium 6:** 36-41.

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.

Withers LA (1991) *In vitro* conservation. In: Hawkes JG (ed.) **Genetic conservation of world crop plants.** San Diego: Academic, p. 31-42.