

Salinidade in vitro de diferentes variedades de mandioca

Aparecida Gomes de Araujo¹, Milena Nascimento Cardoso², Felipe Emanuel Martins Cruz³, Ana da Silva Léo⁴, Sara Dayan da Silva Oliveira⁵, Isabella Cícera Dias Miranda⁶

Resumo

A mandioca é de suma importância para o mundo constituindo a alimentação de grande parte da população de países emergentes. O objetivo deste trabalho foi estudar o comportamento de diferentes variedades de mandioca BRS Formosa, BRS Verdinha e Lagoão durante o cultivo in vitro em meio de cultura com diferentes concentrações de sais (NaCl). Para avaliação do estresse salino, microestacas (comprimento 1 cm contendo 1 gema) dos diferentes genótipos foram inoculados em meio de cultura MS com concentrações de NaCl (0; 25; 50; 75; 100 mM) e mantidos em sala de crescimento. Após cultivo em meio salino conclui-se que o aumento da concentração de cloreto de sódio (NaCl) promove uma redução no crescimento/desenvolvimento in vitro dos explantes iniciais das variedades de mandioca Lagoão e 'BRS Verdinha'. A variedade Formosa apresenta tolerância em concentrações mais elevadas de sais aos 90 dias de cultivo in vitro.

Palavras-chave: *Manihot esculenta* L., estresse salino, propagação in vitro.

¹ Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, bolsista CNPq/FAPITEC-SE/Embrapa, Aracaju, SE.

² Bióloga, mestranda em Agronomia, bolsista da Embrapa da Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

³ Graduando em Agronomia, estagiário da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

⁴ Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, bolsista de produtividade do CNPq, Aracaju, SE.

⁵ Graduanda em Biologia, estagiário da Embrapa Tabuleiros Costeiros Aracaju, SE.

⁶ Graduanda em Biologia, estagiário da Embrapa Tabuleiros Costeiros Aracaju, SE.

Introdução

A mandioca, *Manihot esculenta* Crantz., apresenta-se como cultura de grande importância à agricultura brasileira. É uma espécie perene, originária da América, e cultivada em países tropicais pela sua alta produção mesmo em condições adversas. A produtividade e a qualidade dos seus produtos são dependentes do genótipo utilizado e das condições do solo em que foi cultivado.

A utilização de manivas de boa qualidade, oriundas de mudas micropropagadas, tem influência direta no aumento da produtividade. Existem diversas variedades adaptadas ao semiárido, com excelentes rendimentos, mas muitas vezes os pequenos produtores não têm acesso sequer a uma oferta de manivas em quantidade suficiente, com a desejável qualidade genética e fitossanitária, a exemplo de variedades tolerantes aos solos salinos, muito comum nas regiões Norte e Nordeste do país (NOBREGA et al., 2012).

A salinidade prejudica o desenvolvimento e produtividade das plantas, pois limita o crescimento causado pelo déficit hídrico, toxidez provocada por íons, desequilíbrio nutricional e indiretamente mediando competições interespecíficas. Além disso, a salinização dos solos danifica determinados processos, tais como síntese de proteínas, metabolismo de lipídios e fotossíntese (ESTEVES; SUZUKI, 2008). Características da planta, incluindo órgão ou tecido, estágio de desenvolvimento e genótipo influenciam a resposta ao estresse.

Plantas halófitas possuem maior tolerância à concentração de sais, essas plantas absorvem o cloreto de sódio em altas taxas e o acumulam nos vacúolos, mantendo a concentração de sais em baixos níveis no citoplasma. Este mecanismo, além de contribuir para o ajustamento osmótico, evita a interferência dos íons tóxicos sobre o metabolismo e a camada de hidratação das proteínas (FERNANDES et al., 2010). Por outro lado, as plantas sensíveis à salinidade (glicófitas) apresentam redução do crescimento quando expostas até mesmo a salinidades moderadas.

Informações sobre resposta do cultivo da mandioca à salinidade *in vitro*, são bem restritas justificando nosso trabalho, o qual tem por objetivo avaliar a

tolerância de diferentes variedades de mandioca aos efeitos da salinidade durante o processo de micropropagação.

Material e Métodos

Brotações de mandioca das variedades BRS Formosa, BRS Verdinha e Lagoão já estabelecidas *in vitro* foram utilizadas como fonte de explantes. Microestacas medindo aproximadamente um centímetro de comprimento e contendo uma gema foram inoculadas nos tratamentos.

Os meios de cultura utilizados consistiram das seguintes formulações: Meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) contendo 20 g/L de sacarose, pH ajustado a 5,7 e solidificado com 4 g/L de Phytigel. Os tratamentos adicionados ao meio consistiram de diferentes concentrações de cloreto de sódio - NaCl (0, 25, 50, 75, 100 mM).

Todos os meios de cultura foram autoclavados a 121 °C, pressão de 1,05 Kg/cm² por 20 minutos. Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio de cultivo. Após inoculados, foram vedados com papel alumínio e filme plástico de polietileno e os tubos, incubados em sala de crescimento com temperatura regulada em 25 °C ± 2 °C, fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa de 60 µmol/m²/s, por três meses.

Os experimentos foram instalados em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 3x5 totalizando quinze tratamentos com quatro repetições composta por quatro tubos cada uma. Cada tubo continha um explante (microestaca). Após 90 dias do cultivo *in vitro*, avaliou-se: número de nós, comprimento da parte aérea, a massa fresca (mf) e massa seca (ms) das brotações, taxa de sobrevivência das mudas, e os graus de hidratação dos tecidos, de acordo com a formula $[(mf-ms)/mf] * 100$.

Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância pelo teste F a 5% de probabilidade e, nos casos de significância, realizou-se análise de regressão para dados quantitativos e teste de Tukey para dados qualitativos, utilizando o software estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011).

Resultados e Discussão

De acordo a análise de variância houve interação significativa para todas as variáveis estudadas. A variedade BRS Formosa não apresentou diferença significativa entre os tratamentos para todas as variáveis respostas (Figura 1A a 1F). Para a variedade BRS Verdinha houve diferença significativa dos tratamentos para todas as variáveis, exceto massa fresca (mf) e massa seca de plantas (ms) e para a variedade Lagoão houve significância dos tratamentos para todas as variáveis (Figuras 1A a 1F). Os resultados evidenciam que o incremento de NaCl ao meio reduz linearmente o número de nós (NN) formados e o comprimento da parte aérea (CPA) para as variedades Lagoão e BRS Verdinha, assim como a massa fresca e seca na variedade Lagoão. O grau de hidratação nos tecidos da 'BRS Verdinha' e Lagoão tiveram comportamento quadrático (Figura 1E).

A taxa de sobrevivência variou de 62,5% a 100% em todas as variedades de mandioca (Figura 1F). Essa variável não foi muito expressiva, ao contrário do comprimento da parte aérea onde foi possível observar que os explantes sobreviveram mesmo quando inoculados em meios com concentrações salinas elevadas, porém não apresentaram crescimento satisfatório. Os resultados obtidos concordam com Schossler et al., 2012), os quais registraram o efeito da salinidade, principalmente, na redução do crescimento devido aos desequilíbrios nutricionais que esse estresse gera na planta.

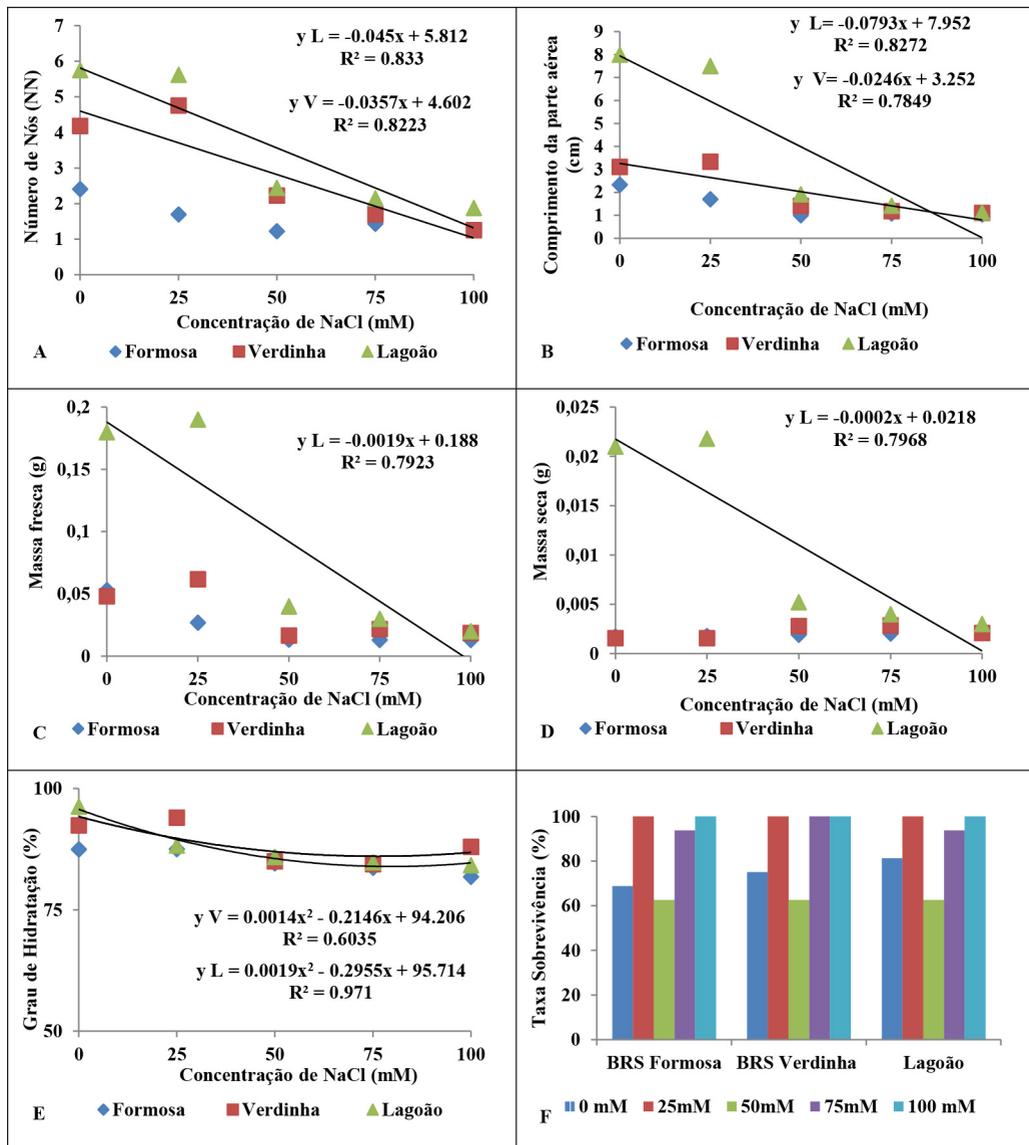


Figura 1. A- Número de Nós (NN); B- comprimento da parte aérea; C- massa fresca (mf); D- massa seca (ms); E- grau de hidratação dos tecidos e F- taxa de sobrevivência em brotações de diferentes variedades de mandioca.

Neste cenário, pode ser observado nas Figuras 1B e 1E que a redução do crescimento induzida pelo estresse salino foi mais pronunciada no comprimento da parte aérea, indicando também uma redução do grau de hidratação dos tecidos nas plantas de mandioca em doses crescentes de NaCl. Esses resultados evidenciam o estresse osmótico induzido pela salinidade até as concentrações de 76,64 mM e 77,76 mM de NaCl para as variedades BRS Verdinha e Lagoão, respectivamente.

Conforme Martins et al., (2012) o sal presente na solução do solo impede a absorção de nutrientes necessários para o desenvolvimento regular das plantas, o que causa efeito complexo sobre o metabolismo, e resultam em toxicidade iônica, déficit hídrico e desequilíbrio nutricional.

A variedade Lagoão quando cultivada em meio com 25 mM de NaCl e ausência do sal registrou maior número de nós, comprimento da parte aérea e massa fresca de plantas em detrimento das variedades BRS Verdinha e Formosa. Entretanto, a dose de 25 mM de NaCl reduziu a massa seca das variedades Verdinha e Formosa (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito de diferentes soluções salinas no número de nós, comprimento da parte aérea, em cm, massa fresca (g), massa seca (g) e grau de hidratação dos tecidos (%) em variedades de mandioca aos 90 dias de cultivo in vitro.

NaCl (mM)	Número de nós (NN)			Comprimento da parte aérea (cm)			Massa fresca de plantas (g)		
	Formosa	Verdinha	Lagoão	Formosa	Verdinha	Lagoão	Formosa	Verdinha	Lagoão
0	2.4 c	4.18 b	5.75 a	2.32 b	3.10 b	7.99 a	0.0530 b	0.0480 b	0.18 a
25	1.69 c	4.75 b	5.62 a	1.69 b	3.33 b	7.50 a	0.0269 b	0.0618 b	0.19 a
50	1.22 a	2.22 a	2.44 a	1.00 a	1.40 a	1.91 a	0.0133 a	0.0166 a	0.04 a
75	1.43 a	1.69 a	2.14 a	1.08 a	1.18 a	1.41 a	0.0132 a	0.0218 a	0.03 a
100	1.25 a	1.25 a	1.87 a	1.03 a	1.11 a	1.12 a	0.0130 a	0.0187 a	0.02 a
NaCl (mM)	Massa seca de plantas (g)			Grau de hidratação dos tecidos (%)					
	Formosa	Verdinha	Lagoão	Formosa	Verdinha	Lagoão	Formosa	Verdinha	Lagoão
0	0.00172 a	0.00157 a	0.0210 a	87.46 c	92.4 b	96.3 a			
25	0.00176 b	0.00155 b	0.0218 a	87.50 b	94.0 a	88.2 b			
50	0.00190 a	0.00280 a	0.0052 a	84.56 a	85.1 a	85.8 a			
75	0.00202 a	0.00285 a	0.0041 a	83.68 a	84.4 a	84.7 a			
100	0.00227 a	0.00209 a	0.0030 a	81.83 c	87.9 a	84.2 b			

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si, estatisticamente, pelo teste de Tukey a 5% de significância.

As Figuras 2, 3 e 4 demonstram o comportamento dos explantes de mandioca das variedades BRS Formosa, BRS Verdinha e Lagoão respectivamente. Observações visuais indicam que a Variedade Lagoão aos 30 dias apresenta mudas mais vigorosas e ao longo do tempo houve senescência de folhas e necrose dos tecidos (Figura 4). Entretanto, a variedade BRS Formosa aos 90 dias de cultivo in vitro (Figura 2), apesar de apresentar brotações menores, observou-se visualmente plantas mais vigorosas e com formação de raízes, e não diferindo estatisticamente da testemunha (Figura 1A a 1E). Estes dados estão de acordo com Sousa et al. (2011), segundo os quais os fatores que mais influenciam a magnitude dos danos causados pelo estresse salino são: o tempo, a concentração, a tolerância da cultura e o volume de água transpirado.

A variedade BRS Verdinha não apresentou muitas alterações ao longo do cultivo in vitro (Figura 3), no entanto estatisticamente a ausência de sal foi superior para número de nós e comprimento da parte aérea.

Fotos: Aparecida Gomes de Araujo

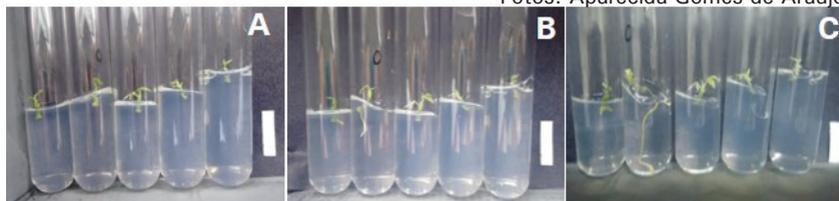


Figura 2. Concentrações de Cloreto de sódio (NaCl) in vitro. Variedade Formosa (A) 30 dias após inoculação e (B) 60 dias e (C) 90 dias. Da esquerda para direita, concentrações salinas: 0; 25; 50; 75; 100 mM de NaCl.

Fotos: Aparecida Gomes de Araujo



Figura 3. Concentrações de Cloreto de sódio (NaCl) in vitro. Variedade Verdinha: (A) 30 dias após inoculação e (B) 60 dias e (C) 90 dias. Da esquerda para direita, concentrações salinas: 0; 25; 50; 75; 100 mM de NaCl.

Fotos: Aparecida Gomes de Araujo



Figura 4. Concentrações de Cloreto de sódio (NaCl) in vitro. Variedade Lagoão: (A) 30 dias após inoculação e (B) 60 dias e (C) 90 dias. Da esquerda para direita, concentrações salinas: 0; 25; 50; 75; 100 mM de NaCl.

Conclusões

O aumento da concentração de cloreto de sódio (NaCl) promove redução no crescimento/desenvolvimento in vitro dos explantes iniciais das variedades de mandioca Lagoão, 'BRS Verdinha'.

A var. Formosa apresenta tolerância em concentrações mais elevadas de sais aos 90 dias de cultivo in vitro.

Agradecimentos

Ao CNPq, Fapitec e Embrapa Tabuleiros Costeiros.

Referências

ESTEVES, B. S.; SUSUKI, M. S. Efeito da salinidade sobre plantas. **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, RJ, v. 4, n. 12, p. 662-679, 2008.

FERNANDES, P. D.; GHEYI, H. R.; ANDRADE, A. P.; MEDEIROS, S. S. Biossalinidade e produção agrícola. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. **Manejo da salinidade na agricultura**: Estudos básicos e aplicados. Fortaleza: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, 2010. p. 181-203.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, MG, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

MARTINS, S. S.; PEREIRA, M. C.; LIMA, M. A. G.; QUEIROZ, A. A.; SILVA A. S. B.; MISTURA, C.; RODRIGUES, J. D.; ORIKA ONO, E. Morfofisiologia da cunhã cultivada sob estresse salino. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, BA, v. 13, n. 1, p. 13-24, 2012.

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

NOBREGA, J. A.; AZEVEDO, C. A. V.; NETO, J. D.; LIMA, V. L. A.; NETO, G. C. G. Crescimento do pinhão-manso sob irrigação com água salina e adubação orgânica em condições de campo. **Revista Verde**, Mossoró, RN, v. 7, n. 1, p. 61-60, 2012.

SCHOSSLER, T. R.; MACHADO, D. M.; ZUFFO, A. M.; ANDRADE, F. R.; PIAUILINO, A. C. Salinidade: efeitos na fisiologia e na nutrição mineral de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, GO, v. 8, n. 15, p.1563-1578, 2012.