



## AMBIENTES DE CULTIVO *IN VITRO* FAVORÁVEIS AO PROCESSO DE ACLIAMATIZAÇÃO DA MANDIOCA

Jackson de Oliveira Mendonça<sup>1</sup>, Carlos Alberto da Silva Ledo<sup>2</sup>, Antônio da Silva Souza<sup>3</sup>, Mariane de Jesus da Silva de Carvalho<sup>4</sup>, Karen Cristina Fialho dos Santos<sup>5</sup>, Maria Inês de Souza Mendes<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Estudante de agronomia, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Av. Rui Barbosa, 710 – CEP 44380-000 – Cruz das Almas-Ba, jacksonmendonca01@gmail.com; <sup>2</sup>carlos.ledo@embrapa.br; <sup>3</sup>antonio.silva-souza@embrapa.br; <sup>4</sup>marianejs@yahoo.com.br; <sup>5</sup>karen.santos@embrapa.br; <sup>6</sup>inessm.123@gmail.com

Temática: Melhoramento genético e biotecnologia

### Resumo

A micropropagação vem sendo empregada amplamente na multiplicação acelerada de mudas de muitas espécies vegetais. No entanto, essa técnica enfrenta alguns problemas, sendo um dos principais a baixa taxa de sobrevivência das plantas durante a aclimatização. Dessa forma, objetivou-se com este trabalho adequar condições de cultivo *in vitro* que permitam aumentar a taxa de sobrevivência das plantas quando submetidas ao processo de aclimatização. O experimento foi dividido em duas fases: a primeira *in vitro* e a segunda a aclimatização *in situ*. Para isso, microestacas dos acessos BGM 0072, BGM 0133, BGM 0947, BGM 1660 e Milagrosa foram cultivadas *in vitro* em sala de crescimento sob condições de temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  (ambiente 1), em BODs com temperaturas de  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  (ambientes 2 e 3, respectivamente), em casa de vegetação (ambiente 4) e em telado com sombrite 70 % (ambiente 5), estes dois últimos com temperaturas ambientes em torno de  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $31 \pm 1^\circ\text{C}$ , respectivamente. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 5 (acessos) x 5 (ambientes), com 15 repetições. Em geral, o acesso que apresentou as maiores médias foi o BGM 0947. Entre os ambientes, a casa de vegetação torna-se mais econômico que os demais, já que não há necessidade de utilizar equipamentos e gastos com energia para a fase de desenvolvimento *in vitro*.

**Palavras Chave:** *Manihot* spp; micropropagação; condições de cultivo; produção de mudas.

### Introdução

A propagação vegetativa da mandioca é realizada mediante o emprego de estacas denominadas manivas. Anualmente, em condições adequadas, a partir de uma quantidade inicial determinada, é possível a produção de estacas para plantio de uma área aproximadamente oito vezes maior que a inicial. No entanto, apesar de produzir uma quantidade considerável de material de plantio, esta via ainda é considerada um meio lento para a propagação da mandioca (Lopez, 1995).

A micropropagação tem sido a melhor alternativa para acelerar esse processo. Esta técnica é utilizada para a produção de grandes quantidades de plantas em pouco tempo e utilizando um pequeno espaço físico. Esse método tem propiciado ainda a eliminação de patógenos nos materiais de plantio (Souza et al., 2006). Entretanto, as plantas provenientes do cultivo *in vitro* devem passar por uma fase de adaptação gradativa em ambiente externo ao laboratório, aumentando assim a taxa de sobrevivência, fase essa chamada de aclimatização. Para que o processo de micropropagação seja bem sucedido, todo o ciclo *in vitro* deve ser bem ajustado, desde a introdução dos explantes no meio de cultura até a aclimatização, haja vista que uma má condução nessa última fase pode colocar em risco todas as etapas efetuadas em laboratório.

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar a influência de ambientes de cultivo *in vitro* no índice de pegamento na fase de aclimatização e que favoreçam o desenvolvimento das plantas de mandioca.

### Material e Métodos

O experimento foi dividido em dois momentos, sendo o primeiro realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos, casa de vegetação e telado da Embrapa Mandioca e Fruticultura (fase de crescimento *in vitro*). Já o segundo momento foi realizado apenas em telado (fase de aclimatização).



Como material vegetal foram utilizadas microestacas de mandioca, com aproximadamente 1 cm de tamanho, extraídas de plantas dos acessos BGM 0072 (Salangor Preta), BGM 0133 (São Pedro), BGM 0947 [Jaboti Branco (IM-088)], BGM 1660 (Batata) e Milagrosa, previamente cultivadas *in vitro*.

Os explantes foram cultivados em sala de crescimento com temperatura de  $27 \pm 1$  °C (ambiente 1), em BODs com temperaturas de  $35 \pm 1$  °C e  $30 \pm 1$  °C (ambientes 2 e 3, respectivamente), em casa de vegetação (ambiente 4) e em telado com sombrite 70 % (ambiente 5), estes dois últimos com temperatura ambiente, em torno de, respectivamente,  $28 \pm 1$  °C e  $31 \pm 1$  °C.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 5 (acessos) x 5 (ambientes), com 15 repetições, sendo cada parcela experimental representada por um tubo de ensaio contendo uma microestaca. Perfazendo um total de 75 plântulas para cada genótipo e 75 plântulas para cada ambiente.

Após 60 dias de cultivo, realizou-se a aclimatização das plantas oriundas de todos os ambientes. Na aclimatização, as plantas foram levadas para um telado com sombrite de 50 % e removidas dos tubos de ensaio, realizando-se a lavagem das raízes para eliminação dos resíduos do meio de cultura. Após este processo, cada planta foi transplantada para um copo descartável, com capacidade volumétrica de 300 mL, contendo o substrato (Vivato®). Após o plantio, as plantas foram molhadas com regador e cobertas com outros copos de plástico, com o intuito de formar uma câmara úmida e evitar a desidratação.

Após as plantas atingirem a altura dos copos de cobertura, eles foram removidos. Depois de 30 dias as plantas foram avaliadas por meio das variáveis massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) em g. Os acessos BGM 0133 e Milagrosa não foram avaliados no ambiente 5 pois apresentaram contaminação microbiana.

Os dados coletados foram submetidos ao teste F da análise de variância. As médias obtidas nos acessos e nos ambientes foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico SAS – Statistical Analysis System (SAS INSTITUTE, 2004).

## Resultados e Discussão

Observando a Tabela 1, para a matéria fresca de parte aérea, pode-se observar que somente o BGM 0947 apresentou diferença significativa em relação aos ambientes de cultivo, com as maiores médias nos ambientes 2, 3 e 4.

Em relação à variável massa fresca de raízes, nota-se que não houve efeito significativo das interações, apresentando maiores médias o BGM 0072 no ambiente 5, o acesso BGM 0947 no ambiente 1, 2 e 4, e o BGM 1660 no ambiente 4.

Quanto à matéria seca de parte aérea, os acessos que apresentaram diferenças significativas foram o BGM 0947 no ambiente 5 e a ‘Milagrosa’ no ambiente 4. Entretanto, o efeito negativo dos ambientes 1, 2 e 3 foi percebido para o BGM 1660, e para os ambientes 1 e 3 em relação aos acessos BGM 0133 e BGM 0072, respectivamente. Todavia, as maiores médias foram observadas nos acessos BGM 0947, nos ambientes 2 e 3, por provável influência das temperaturas mais altas de  $35 \pm 1$  °C e  $30 \pm 1$  °C, respectivamente, enquanto que a ‘milagrosa’ sobressaiu-se nos ambientes 1 e 3.

A matéria seca das raízes apresentou diferenças significativas para os acessos BGM 0947 no ambiente 5 e BGM 1660 no ambiente 2, com valores médios inferiores aos demais. Os ambientes que influenciaram uma menor produção de MSR foram o 2, para os acessos BGM 1660 e ‘Milagrosa’, e o 3, para o BGM 0072 e BGM 1660. As maiores médias foram obtidas no BGM 0947, nos ambientes 2 e 3, seguindo a proporção do MSPA



**Tabela 1.** Valores médios (g) de massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa fresca da raiz (MFR) e massa seca da raiz (MSR) de plantas micropropagadas de cinco acessos de mandioca cultivados em diferentes ambientes.

Ambientes de cultivo <sup>(1)</sup>	Acessos				
	BGM 0072	BGM 0133	BGM 0947	BGM 1660	Milagrosa
MFPA					
1	1,70 aA	1,07 aA	1,77 abA	1,22 aA	2,75 aA
2	1,47 aAB	1,42 aAB	2,73 abA	0,40 aB	1,62 aAB
3	1,23 aA	1,80 aA	2,38 abA	1,13 aA	1,68 aA
4	1,90 aA	1,67 aA	2,90 aA	2,57 aA	1,44 aA
5	2,18 aA	CB <sup>(2)</sup>	0,86 bA	1,29 aA	CB <sup>(2)</sup>
MFR					
1	0,67 aA	0,61 aA	1,30 aA	0,56 aA	0,80 aA
2	0,76 aA	0,44 aA	1,24 aA	0,11 aA	0,34 aA
3	0,22 aA	0,49 aA	0,54 aA	0,16 aA	0,26 aA
4	0,64 aA	0,73 aA	1,34 aA	1,19 aA	0,6 aA
5	1,58 aA	CB <sup>(2)</sup>	0,54 aA	0,74 aA	CB <sup>(2)</sup>
MSPA					
1	0,45 aAB	0,31 aB	0,41 abAB	0,29 aB	0,75 aA
2	0,50 aAB	0,37 aAB	0,73 aA	0,12 aB	0,39 abAB
3	0,37 aB	0,52 aAB	0,83 aA	0,33 aB	0,70 abAB
4	0,33 aA	0,28 aA	0,65 aA	0,59 aA	0,30 bA
5	0,50 aA	CB <sup>(2)</sup>	0,15 bA	0,27 aA	CB <sup>(2)</sup>
MSR					
1	0,15 aA	0,17 aA	0,27 abA	0,14 abA	0,22 aA
2	0,30 aAB	0,17 aABC	0,34 aA	0,05 bC	0,15 aBC
3	0,15 aB	0,22 aAB	0,32 aA	0,13 abB	0,21 aAB
4	0,16 aA	0,12 aA	0,28 abA	0,29 aA	0,13 aA
5	0,30 aA	CB <sup>(2)</sup>	0,12 bA	0,16 abA	CB <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>1. Sala de crescimento sob condições de temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ; 2. BOD com temperatura de  $35 \pm 1^\circ\text{C}$ ; 3. BOD com temperatura de  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ ; 4. Casa de vegetação; 5. Telado com sombrite 70 %.

<sup>(2)</sup>CB = contaminação bacteriana.

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

Em geral, os acessos apresentaram um desempenho *in vitro* bem diferenciado, demonstrando o efeito do genótipo. Diversos autores têm relatado esse efeito para muitas culturas, provando que o potencial de regeneração *in vitro* não depende somente de fatores inerentes ao meio de cultura, mas também das diferenças no componente genético, que controla o potencial morfogenético dos genótipos (Nogueira et al., 2001).

O ambiente 4 foi o que mais favoreceu o desenvolvimento dos acessos, onde a fonte de luminosidade utilizada é natural. Por possuir maior intensidade luminosa que a artificial, facilita o processo de aclimatização de plantas cultivadas *in vitro*, promovendo a fotossíntese e melhorando as relações hídricas (Zhou et al., 2005). Esse ambiente, além de favorecer o cultivo *in vitro* comparado aos demais, é mais econômico, o que também foi comprovado por Kodyn & Zapata-Arias (1998), que estudaram a utilização potencial da luz solar sobre o cultivo *in vitro* de bananeira ‘Grande Naine’.

### Conclusão

O acesso que apresentou maior crescimento de parte aérea e raízes foi o BGM 0947. O melhor ambiente foi a casa de vegetação ( $28^\circ\text{C}$  e luz natural)



### Agradecimentos

À Embrapa Mandioca e Fruticultura, pelo financiamento da Pesquisa.

### Bibliografia

IBGE. **Indicadores IBGE: Estatística de Produção Agrícola**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas – IBGE, 80 p. Mar. 2012.

KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F.J. Natural light as an alternative light source for the in vitro culture of banana (*Musa acuminata* cv. ‘Grande Naine’). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 55, p. 141-14, 1998.

LOPEZ, J. M. Producción comercial de semilla de yuca. **Yuca Boletín Informativo**, v. 19, n. 2, p. 1-2, 1995.

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**, v. 25, n. 1, p. 63-71, 2001.

SAS INSTITUTE. **SAS user’s guide**: statistic: version 9.1.3. Cary: SAS Institute, 2004. 846 p.

SOUZA, A. da S.; COSTA, M. A. P. de; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; JUNGHANS, T. G.; SOUZA, F. V. D. Introdução à cultura de tecidos de plantas. In: SOUZA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (Ed.). **Introdução à cultura de tecidos de plantas**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. p. 11-37.

ZHOU, Y.-H.; GUO, D.-P.; ZHU, Z.-J.; QIAN, Q.-Q. Effects of in vitro rooting environments and irradiance on growth and photosynthesis of strawberry plantlets during acclimatization. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 81, n. 1, p. 105-108, 2005.