



STIMULATE®: FONTE ALTERNATIVA DE REGULADORES DE CRESCIMENTO PARA A MICROPROPAGAÇÃO DA MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz)

Karen Cristina Fialho dos Santos¹, Victor Augusto Carneiro Assunção², Mariane de Jesus da Silva de Carvalho³, Antônio da Silva Souza⁴, Vanessa Barbosa Gomes⁵, Jackson de Oliveira Mendonça⁶

¹Analista, Mestre, Embrapa Mandioca e Fruticultura, Rua Embrapa, S/N, Cruz Das Almas-BA, karen.santos@embrapa.br; ²victor.a.c@hotmail.com; ³marianejs@yahoo.com.br; ⁴antonio.silva-souza@embrapa.br; ⁵nessynha.gomes@hotmail.com; ⁶jacksonmendonca01@gmail.com

Temática: Melhoramento genético e biotecnologia

Resumo

Com grande importância econômica e desempenhando um importante papel na dieta alimentar dos brasileiros, a mandioca tem como principal forma de multiplicação a propagação vegetativa, que além de lenta ainda pode transmitir doenças e pragas para próximas gerações. Torna-se fundamental, portanto, o uso de material vegetativo de ótima qualidade genética e fitossanitária, a fim de promover ganhos significativos na produção. Desse modo, a micropropagação surge como uma alternativa para contornar esses problemas, pois, entre as vantagens desse método, destaca-se a produção de plantas sadias e de melhor qualidade. O objetivo deste trabalho foi estudar a utilização do Stimulate® na micropropagação de acessos oriundos do Banco de Germoplasma de Mandioca da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Esses acessos foram os BGM 491, BGM 520 e BGM 611, sendo estudados os meios MS + Stimulate®, MS001 e 17N, os dois últimos já empregados na micropropagação da mandioca, consistindo assim em um esquema fatorial 3 x 3, em um delineamento inteiramente casualizado. O Stimulate® mostrou ser uma alternativa eficiente quando adicionado aos meios de cultura utilizados na micropropagação da mandioca.

Palavras Chave: Mandioca, cultura de tecidos, propagação *in vitro*, reguladores vegetais.

Introdução

Pertencente à família Euphorbiaceae, a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma espécie nativa das Américas e de grande importância econômica e social, sendo cultivada em grande parte do território brasileiro, além de constituir a base alimentar de muitas famílias. Sua forma de propagação vegetativa, mediante as manivas, além de lenta, pode reduzir a produção devido ao envelhecimento fisiológico do material, decorrente de sucessivas multiplicações e ainda transmitir doenças para as plantas futuras, diminuindo a qualidade e a produtividade do material cultivado. Segundo Souza *et al.* (2008), uma das grandes limitações para a expansão e um cultivo produtivo de mandioca é a falta da produção em massa de material de plantio básico sadio. Desta forma, é fundamental a utilização de material propagativo de alta qualidade genética e fitossanitária que promova melhorias na cadeia produtiva da cultura. Nesse contexto, a micropropagação pode ser uma alternativa para minimizar esses problemas, uma vez que produzirá plantas de melhor qualidade e em maior quantidade, utilizando espaços físicos menores e em menor tempo. No entanto, o sucesso da micropropagação dependerá da espécie utilizada e dos componentes empregados na composição do meio de cultura, pois para cada espécie há uma necessidade de otimização das condições do meio. Além disso, o preço da planta produzida *in vitro* se constitui em um obstáculo para a adoção por parte dos agricultores, tornando-se necessário que esforços sejam direcionados para desenvolver tecnologia de baixo custo (Thro *et al.*, 1999). Normalmente, modificações são realizadas nos componentes do meio, tais como sais minerais, vitaminas, reguladores de crescimento e carboidratos, cujas concentrações são ajustadas em função dos objetivos e genótipos estudados. Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a ação do Stimulate®, um fitoestimulante comercial, na micropropagação de acessos de mandioca.



Material e Métodos

No experimento foram utilizadas microestacas com aproximadamente 1 cm de comprimento, extraídas de plantas previamente cultivadas *in vitro* no Laboratório de Cultura de Tecidos, dos acessos BGM 491 (Veada), BMG 520 (Vassourinha I) e BMG 611 (Curimenzinha), oriundos do Banco de Germoplasma de Mandioca da Embrapa Mandioca e Fruticultura, situada na cidade de Cruz das Almas, Bahia.

Os meios de cultura utilizados para o cultivo das microestacas foram: MS (Murashige; Skoog, 1962) + Stimulate[®], MS001 [MS suplementado com 0,01 mg.L⁻¹ de ANA (ácido naftalenoacético), BAP (benzilaminopurina) e AG₃ (ácido giberélico)] e o 17N (CIAT, 1982), esses dois últimos já empregados na micropropagação de mandioca. O Stimulate[®] foi utilizado como fonte alternativa para os reguladores de crescimento. Para que as concentrações dos reguladores de crescimento, ácido indolbutírico, cinetina e ácido giberélico, fossem de 0,005 mg.L⁻¹, 0,01 mg.L⁻¹ e 0,005 mg.L⁻¹, respectivamente, foram adicionados aos meios de cultura 111 µl de Stimulate[®]. Todos os meios foram suplementados com 30 g.L⁻¹ de sacarose, solidificados com 7 g.L⁻¹ de ágar e o pH ajustado em 5,8, distribuindo-se 10 ml em tubos de ensaio de 25 mm x 150mm. Após a introdução, as microestacas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 27 ± 1 °C, densidade de fluxo de fótons de 30 µmol.m⁻².s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas.

O experimento foi instalado no delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial 3 x 3, sendo três meios de cultura e três acessos de mandioca, com 25 repetições, onde cada parcela experimental foi constituída de um tubo de ensaio contendo uma microestaca. A avaliação foi realizada aos 2 meses de cultivo *in vitro*, envolvendo as variáveis números de folhas verdes (NFV), número de folhas mortas (NFM), número de microestacas apicais (NMA), número de microestacas laterais (NML) e comprimento da haste (CH), em cm. As variáveis NFV, NFM, NMA e NML foram transformadas para $\sqrt{x+0,5}$ visando atender à análise de variância. Os dados foram submetidos ao teste F da análise de variância. As médias dos meios de cultura e dos genótipos 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

Pode-se observar que para o número de folhas verdes, os diferentes meios de cultura não apresentaram resultados significativos para em relação ao acesso BGM 611, enquanto que para o BGM 491 os meios MS001 e MS+Stimulate[®] mostraram-se superiores ao meio 17N. Já no cultivo do BGM 520, apenas o meio MS001 foi estatisticamente superior ao 17N (Figura 1).

Ao analisar a variável NFM (Figura 1), foi observado que os diferentes tipos de meio de cultura não tiveram efeitos significativos sobre os três acessos de mandioca.

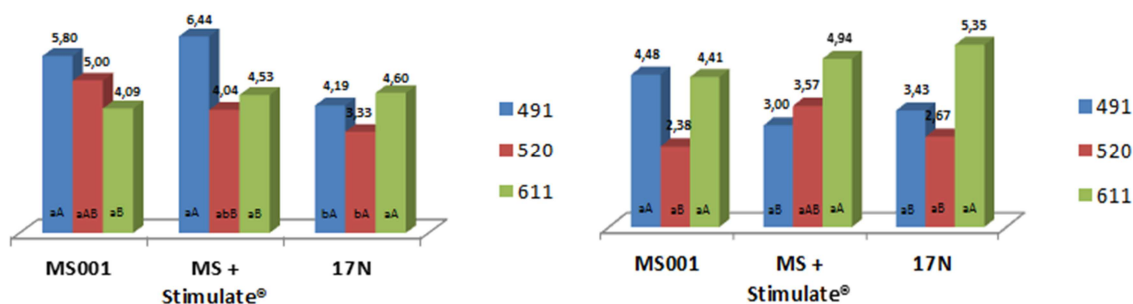


Figura 1. Valores médios do número de folhas vivas/plântula (NFV), à esquerda, e do número de folhas mortas/plântula (NFM) de plantas dos acessos de mandioca (BGM 491, BGM 520 e BGM 611), em relação a três diferentes meios de cultura. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas dentro de cada genótipo e maiúsculas dentro de cada meio não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

As folhas são importantes para o crescimento da planta e as que possuem um elevado número de folhas bem desenvolvidas são fotossinteticamente mais eficientes e, portanto, tem maior taxa de



crescimento. Além disso, plantas bem desenvolvidas, com um sistema foliar que apresenta um bom desenvolvimento, tem maior possibilidade de sobrevivência na fase de aclimatização (Ogero et al., 2012). Nos resultados fica claro também o efeito do genótipo de mandioca no que diz respeito à produção de folhas, já que a variedade BGM 520 foi responsável pelas maiores médias do número de folhas verdes, enquanto no BGM 611 observaram-se mais folhas mortas.

O número de microestacas apicais, para as variedades BGM 491 e BGM 520 os meios de cultura não apresentaram efeitos significativos, enquanto que no BGM 611 o meio 17N mostrou a maior média (1,55), diferindo estatisticamente do MS + Stimulate® (Figura 2).

Em relação a variável NML, produzidas nos acessos BGM 491 e BGM 611 (Figura 2), as maiores médias foram proporcionadas pelo meio MS + Stimulate®, respectivamente 5,12 e 4,12. No entanto, nos três acessos estudados esse meio não diferiu significativamente do MS001.

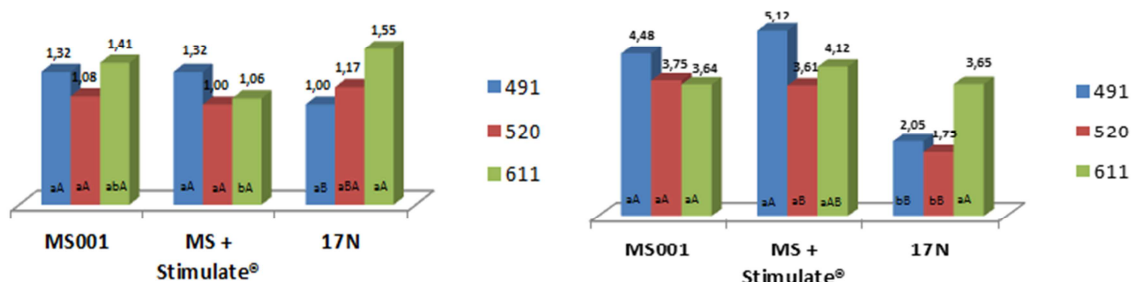


Figura 2. Valores médios do número de microestacas apicais (NMA), à esquerda, e do número de microestacas laterais (NML), à direita, de plantas dos acessos de mandioca (BGM 491, BGM 520 e BGM 611), em relação a três diferentes meios de cultura. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas dentro de cada genótipo e maiúsculas dentro de cada meio não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

O mesmo comportamento da variável número de microestacas laterais ocorreu no comprimento da haste, quando os meios MS + Stimulate e MS001 foram estatisticamente iguais, porém superiores ao 17N (Figura 3)

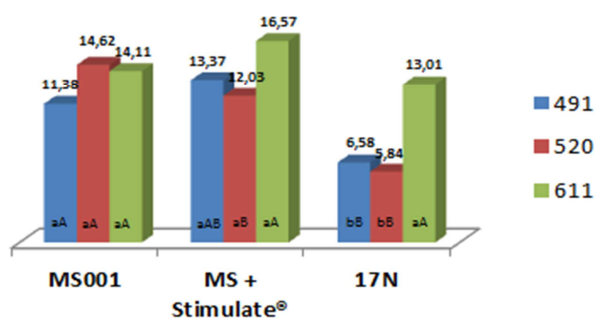


Figura 3. Valores médios de comprimento da haste (CH), em cm, de plantas de acessos de mandioca (BGM 491, BGM 520 e BGM 611), em relação a três diferentes meios de cultura. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas dentro de cada genótipo e maiúsculas dentro de cada meio não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

O número de microestacas é um fator de grande importância, uma vez que elas são utilizadas para a multiplicação *in vitro* por organogênese direta. Portanto, quanto mais elevado o número de microestacas, tanto apicais quanto laterais, maior a taxa de multiplicação, com consequente maior quantidade de plantas micropropagadas de mandioca.

Teoricamente, quanto maior a altura de plantas maior o número de microestacas e, em consequência, maior número de plantas micropropagadas. Entretanto, essa quantidade de microestacas vai depender também da distância entre as gemas laterais, do padrão de crescimento da planta, já que uma planta estiolada apresenta menos gemas laterais que uma planta de crescimento normal, e do genótipo. Diversos autores têm relatado o efeito do genótipo 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).

Conclusão

O meio de cultura com Stimulate® pode ser adicionado aos meios de cultura utilizados na micropropagação da mandioca, por ter comportamento similar ou inferior aos MS001 e 17N, dependendo da variedade. Assim, pode ser utilizado dependendo do genótipo a ser multiplicado.

Agradecimentos

À Embrapa Mandioca e Fruticultura, por fornecer apoio e local para a realização desse trabalho, e a FAPESB pelo auxílio financeiro.

Bibliografia

CASTRO, P. R. C.; PACHECO, A. C.; MEDINA, C. L. Efeitos de estimulante vegetal e fertilizante foliar na vegetação e produção de laranja 'Pera'. **Laranja**, Cordeirópolis, v.22, n.1, p. 113-119, 2001

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).

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.

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.

OGERO, K. O.; MBURUGU, G. N.; MWANGI, M.; OMBORI, O.; NGUGI, M. In vitro micropropagation of cassava through low cost tissue culture. **Asian Journal of Agricultural Sciences**, v. 4, n. 3, p. 205-209, 2012.

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

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; STEIN, V. C.; NERY, F. C.; NOGUEIRA, R. C.; OLIVEIRA, L. M. de. Efeito de meios de cultura, concentrações de GA3 e pH sobre a germinação *in vitro* de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1847 - 1852, 2009

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).

THRO, A. M.; ROCA, W.; RESTREPO, J.; CABALLERO, H.; POATS, S.; ESCOBAR, R.; MAFLA, G.; HERNÁNDEZ, C. Can *in vitro* biology have farm-level impact for small-scale cassava farmers in Latin America? **In Vitro Cellular & Developmental Biology- Plant**, v. 35, p. 382-387, 1999.