

## ESTABELECIMENTO E INFLUÊNCIA RELATIVA DA POSIÇÃO DA GEMA NA MICROESTACA SOBRE AS TAXAS DE MULTIPLICAÇÃO E CRESCIMENTO *IN VITRO* DE GENÓTIPOS DE MANDIOCA

Tatiane Loureiro da SILVA<sup>1</sup>, Elinea de Oliveira FREITAS<sup>2</sup>, Jonny Everson SCHERWINSKI-PEREIRA<sup>3</sup>

**Resumo** - O objetivo do trabalho foi estabelecer genótipos de mandioca *in vitro* e avaliar a influência relativa da localização da gema na microestaca sobre as taxas de multiplicação e crescimento *in vitro* dos indivíduos estabelecidos. Manivas de 25 acessos de mandioca foram plantadas em casa de vegetação para o fornecimento de brotos. Após cerca de três semanas, brotações novas foram coletadas, desinfestadas e inoculadas em meio de cultura MS. Os acessos foram subcultivados durante 35 dias para se determinar a percentagem de sobrevivência, contaminação fúngica e bacteriana e de microestacas não-desenvolvidas. Dos 25 acessos estabelecidos, dez foram selecionados ao acaso e avaliados quanto à taxa de multiplicação, conforme a posição da gema na planta. Para tanto, cinco posições foram avaliadas correspondendo a uma gema apical (Posição 1) e quatro gemas laterais (P2 a P5). Aos 40 dias foi determinada a taxa de multiplicação e altura das brotações formadas. Verificou-se que apesar de perdas por contaminação e não desenvolvimento, microestacas provenientes de manivas cultivadas em casa de vegetação são explantes propícios para o estabelecimento *in vitro* de acessos de mandioca, uma vez que todos os 25 acessos foram estabelecidos e multiplicados. De maneira geral, gemas da posição apical (P1) proporcionam resultados significativamente superiores para taxas de multiplicação e altura de plantas quando comparadas as demais posições testadas (P2 a P5).

**Palavras-chaves:** *Manihot esculenta* Crantz, sobrevivência, micropropagação, tipo de explante.

**ESTABLISHMENT AND RELATIVE INFLUENCE OF THE MICROSHOOT BUD POSITION ON THE *IN VITRO* MULTIPLICATION RATES AND GROWTH OF CASSAVA GENOTYPES.** The objective of this work was to establish and to evaluate the relative influence of the microshoot bud position on the *in vitro* multiplication rates and growth of cassava genotypes. Cuttings of 25 cassava accessions were planted at greenhouse for shoots supply. After about three weeks, new shoots were collected and taken for laboratory, where were disinfected and inoculated in MS culture medium. The accessions were subcultivated for 35 days to determine the survival percentage, contamination and microshoots development. From 25 accessions, ten were randomly selected and evaluated to the multiplication rates and growth, according to the position of the buds in the initial microshoot. For that, five positions were appraised corresponding to apical bud (Position 1) and four axillary buds (P2 to P5). After 40 days it were determined the multiplication rates and height of the shoots growing *in vitro*. It was verified that in spite of losses for contamination and non development, shoots of cassava cuttings cultivated at greenhouse are favorable explants for the *in vitro* establishment of cassava germplasm, once all the 25 accessions were established and multiplied. In general, buds of the apical position (P1) provided superior results when compared to other position tested (P2-P5) for multiplication rates and height of the plants.

**Keywords:** *Manihot esculenta* Crantz, survival, micropropagation, explant type.

### Introdução

Nos países de clima tropical, a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é considerada uma das principais fontes energéticas, para as populações de baixa renda dos países em desenvolvimento. (Fukuda & Borges, 1991). A mandioca multiplica-se vegetativamente através de segmentos caulinares chamados de manivas, de modo que a planta-mãe é geneticamente e fielmente reproduzida. No entanto, a propagação sucessiva da cultura por manivas ocasiona baixa produção devido ao envelhecimento fisiológico provocado pela constante multiplicação e a infestação por

<sup>1</sup>Mestranda em Biotecnologia (UFAM). Av. Gal. Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 3000, Mini-campus, Bloco G, Coroadó, CEP: 69.077-000 Manaus (AM). E-mail: [tathiloureiro@hotmail.com](mailto:tathiloureiro@hotmail.com)

<sup>2</sup>Graduanda em Ciências Biológicas, Faculdade Alvorada de Brasília, SEUPN 516 Norte, CEP: 70770-520, Brasília (DF). E-mail: [elineaofreitas@yahoo.com.br](mailto:elineaofreitas@yahoo.com.br)

<sup>3</sup>Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, PqEB, Av. W5 Norte (final), Caixa Postal: 02372, Brasília (DF). E-mail: [jonny@cenargen.embrapa.br](mailto:jonny@cenargen.embrapa.br)

doenças, principalmente as sistêmicas, que são transmitidas por sucessivas gerações (Oliveira *et al.*, 2000).

A micropropagação de plantas é uma das aplicações mais importantes da cultura de tecidos *in vitro*. Consiste na formação de novas plantas a partir de pequenas partes de tecido vegetal (explantes), inoculadas em meio nutritivo artificial sob condições assépticas (Piza & Pinho, 2002).

Segundo Fukuda *et al.* (2005), a micropropagação da mandioca é importante por garantir a produção de mudas em alta escala de material genético selecionado. Contudo, nem sempre é possível reproduzir os dados obtidos, devendo ser levado em consideração o efeito do genótipo, estado sanitário do material a ser propagado, e reposta morfogênica obtida a partir da idade e posição do explante obtido da planta matriz (Scherwinski-Pereira *et al.*, 2005). Desta forma, é importante a homogeneidade das condições do material vegetal a ser micropropagado, para que não ocorram erros de interpretação de dados e resultados obtidos.

O objetivo do trabalho foi estabelecer genótipos de mandioca *in vitro* e avaliar a influência relativa da localização da gema na microestaca sobre as taxas de multiplicação e crescimento *in vitro* de indivíduos estabelecidos.

### **Material e Métodos**

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos e Conservação de Germoplasma *In Vitro*, pertencente à Embrapa Recursos Genético e Biotecnologia, Brasília, DF.

Manivas de aproximadamente 20 cm e com oito a dez gemas laterais de 25 acessos de mandioca (Tabela 1) foram cultivadas em casa de vegetação. Após cerca de 20 dias, as manivas apresentando brotações laterais de 3 a 5 cm foram conduzidas para o laboratório, onde foram desfolhadas e reduzidas para microestacas de 1 a 1,2 cm contendo uma gema apical ou lateral. Em seguida, realizou-se a desinfestação destas microestacas, por meio da imersão em álcool 70% por 2 minutos, seguido de hipoclorito de sódio 1,25% por 20 minutos e tríplex lavagem em água destilada e esterilizada, sendo inoculadas em tubo de ensaio preenchido com 10 mL de meio de cultura de MS acrescido de 20 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 10 mg.L<sup>-1</sup> de tiamina, 10 mg.L<sup>-1</sup> de inositol, mais os reguladores BAP, ANA e AG<sub>3</sub>, nas concentrações de 0,02 mg.L<sup>-1</sup>, 0,01 mg.L<sup>-1</sup> e 0,01 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. As gemas foram inoculadas individualmente, sendo mantidas em sala de crescimento sob condições de temperatura de 25±2°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 30 μmolm<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>.

Aos 35 dias de cultivo foi avaliada a percentagem de sobrevivência, contaminação fúngica e bacteriana e a percentagem de explantes não desenvolvidos. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso com 25 acessos. Cada acesso foi estabelecido com até 15 repetições, onde cada repetição foi constituída por um tubo de ensaio contendo uma microestaca. Dos 25 acessos estabelecidos, dez foram selecionados ao acaso e avaliados quanto à taxa de multiplicação, conforme a posição da gema na planta. Para tanto, cinco posições foram avaliadas correspondendo a uma gema apical (Posição 1) e quatro gemas laterais (P2 a P5) de uma mesma planta. A formulação salina e as condições de cultivo foram às mesmas utilizadas para o estabelecimento *in vitro*. Neste experimento, as variáveis analisadas após 40 dias de cultivo foram: altura (cm) e número de gemas (Taxa de multiplicação).

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso com dez acessos e cinco posições das gemas no caule. Cada tratamento foi constituído por até 15 repetições, onde cada repetição foi constituída por um tubo de ensaio contendo uma gema. Os dados foram analisados estatisticamente com a ajuda do programa Sisvar, sendo as médias comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

### **Resultados e Discussão**

Verificou-se que dos 25 acessos estabelecidos *in vitro*, todos apresentaram desenvolvimento inicial e puderam ser utilizados para cultivos posteriores (Tabela 1), sendo que os acessos BGM-03, BGM-63, BGM-143, BGM-188 e BGM-189 atingiram 100% de sobrevivência, sem apresentarem problemas de contaminação ou morte de explantes na etapa inicial. De maneira geral, a contaminação ocasionada por fungos foi maior do que aquela causada por bactérias, sendo que os acessos BGM-04, BGM-162, BGM-179, BGM-187, BGM-196 tiveram taxas igual ou superior a 50% de contaminação ocasionada por fungos. Os acessos BGM-07, BGM-231 e BGM-845, apresentaram tanto contaminação causada por fungos, quanto contaminação ocasionada por bactérias. Durante a etapa de estabelecimento *in vitro*, verificou-se que, de maneira geral, apenas dois acessos de mandioca apresentaram explantes não desenvolvidos (BGM-13 e BGM-58), muito embora este problema não tenha afetado a todos os explantes.

De maneira geral, observou-se que a taxa de multiplicação dos acessos de mandioca foi influenciada pela posição da gema do explante de origem (Tabela 2). Na média geral, o uso de gemas provenientes da porção mais apical do caule da planta matriz foram as que proporcionaram o

maior número de gemas (taxa de multiplicação) e altura de plantas em todos os dez acessos estudados. Quando se avalia a média geral dos acessos, verifica-se que acessos BGM-3, BGM-179 e BGM-254 foram os que apresentaram as maiores médias para taxa de multiplicação entre os acessos, independentemente da posição da gema.

**Tabela 1.** Sobrevivência, contaminação fúngica, bacteriana e de explantes não desenvolvidos (%) de 25 acessos de mandioca estabelecidos *in vitro*. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2009.

Acessos	Sobrevivência	Contaminação fúngica	Contaminação bacteriana	Não desenvolvidos
<b>BGM-03</b>	100	0,0	0,0	0,0
<b>BGM-04</b>	50,0	50,0	0,0	0,0
<b>BGM-07</b>	40,0	30,0	30,0	0,0
<b>BGM-13</b>	75,0	12,5	0,0	12,5
<b>BGM-15</b>	87,5	0,0	12,5	0,0
<b>BGM-58</b>	63,6	9,1	0,0	27,3
<b>BGM-63</b>	100	0,0	0,0	0,0
<b>BGM-143</b>	100	0,0	0,0	0,0
<b>BGM-162</b>	66,7	33,3	0,0	0,0
<b>BGM-164</b>	36,4	63,6	0,0	0,0
<b>BGM-179</b>	50,0	50,0	0,0	0,0
<b>BGM-185</b>	66,7	33,3	0,0	0,0
<b>BGM-187</b>	40,0	60,0	0,0	0,0
<b>BGM-188</b>	100	0,0	0,0	0,0
<b>BGM-189</b>	100	0,0	0,0	0,0
<b>BGM-196</b>	40,0	60,0	0,0	0,0
<b>BGM-221</b>	70,0	0,0	20,0	10,0
<b>BGM-231</b>	66,7	16,7	16,7	0,0
<b>BGM-254</b>	66,7	33,3	0,0	0,0
<b>BGM-259</b>	75,0	25,0	0,0	0,0
<b>BGM-287</b>	20,0	10,0	0,0	70,0
<b>BGM-565</b>	75,0	0,0	0,0	25,0
<b>BGM-845</b>	75,0	12,5	12,5	0,0
<b>BGM-1127</b>	83,3	16,7	0,0	0,0
<b>BGM-1130</b>	70,0	0,0	30,0	0,0
<b>Média</b>	68,7	20,6	4,9	5,8

Não foram observadas diferenças significativas na taxa de multiplicação entre os acessos quando se utilizou gemas da posição mais apical (P1) da planta no início do cultivo. No entanto, na comparação dentro de cada genótipo, verificou-se que somente os acessos BGM-162, BGM-185, BGM-188, BGM-254 e BGM-565 apresentaram diferenças entre as posições da gema para taxa de multiplicação, diferenças estas geralmente observadas já a partir da segunda gema a partir da gema apical. Malosso *et al.* (2007), a fim de determinarem taxas de multiplicação em jambu (*Acmella oleracea* L. R.K. Jansen), a partir da posição da gema de origem na planta matriz, também obtiveram

respostas diferentes quanto ao número de gemas formadas. No entanto, segundo estes autores, as gemas provenientes da posição três é que induziram as maiores percentagens de gemas formadas.

Para altura de plantas, não foi observado interação significativa entre acessos x posição da gema. Diferenças só foram observadas isoladamente entre os fatores (Tabela 2) e, assim como observado para taxa de multiplicação, verificou-se que, na média, a posição apical da gema (P1) foi a que proporcionou as maiores médias, independentemente do genótipo avaliado. Na comparação entre os genótipos, na média, o BGM-179 foi o que apresentou o maior crescimento, independentemente da posição da gema utilizada no início do cultivo.

**Tabela 2.** Efeito da posição (P) da gema sobre a taxa de multiplicação e altura das brotações em acessos de mandioca micropropagados. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2009.

Acessos	Taxa de multiplicação					Média	Altura (cm)					Média
	P1*	P2	P3	P4	P5		P1	P2	P3	P4	P5	
<b>BGM-3</b>	6,0aA	3,3aA	4,0aA	5,0aA	4,7aA	4,6a	5,5	2,8	1,7	3,7	4,5	3,6c
<b>BGM-4</b>	4,3aA	3,3aA	3,0bA	4,3aA	2,7bA	3,5b	4,2	1,8	1,8	2,9	1,2	2,4c
<b>BGM-162</b>	6,0aA	1,0bB	1,3bB	2,3bB	2,0bB	2,5c	8,2	0,3	0,4	1,6	1,6	2,4c
<b>BGM-179</b>	5,3aA	5,3aA	6,0aA	5,0aA	4,0aA	5,1a	13,0	12,3	8,3	7,8	5,3	9,3a
<b>BGM-185</b>	5,7aA	5,0aA	5,0aA	2,0bB	2,7bB	4,1b	12,3	5,3	7,2	5,8	2,4	6,6b
<b>BGM-188</b>	4,7aA	5,0aA	4,3aA	3,0aB	2,0bB	3,8b	9,2	10,6	10,2	6,0	1,2	7,4b
<b>BGM-189</b>	5,3aA	3,7aA	3,7aA	3,7aA	2,3bA	3,7b	8,8	5,0	3,7	4,5	3,3	5,1b
<b>BGM-231</b>	3,7aA	1,0bA	2,0bA	1,0bA	1,0bA	1,7c	4,0	0,5	1,3	0,6	0,6	1,4c
<b>BGM-254</b>	7,0aA	3,7aB	5,3aA	4,3aB	7,0aA	5,5a	13,0	7,1	3,2	4,6	7,6	7,1b
<b>BGM-565</b>	6,0aA	1,0bC	1,0bC	1,0bC	3,3bB	2,5c	9,0	0,5	0,4	0,5	3,8	2,8c
<b>Média</b>	5,4A	3,2B	3,6B	3,2B	3,2B		8,7A	4,6B	3,8B	3,8B	3,1B	
F (A: genótipos):	10,364**						8,924**					
F (B: posição da gema):	12,311**						12,532**					
F (A x B):	1,663**						1,062 <sup>ns</sup>					

\*P1= gema apical; P2= 2<sup>a</sup> gema a partir do ápice; P3= 3<sup>a</sup> gema a partir do ápice; P4= 4<sup>a</sup> gema a partir do ápice; P5= 5<sup>a</sup> gema a partir do ápice. \*\* significativo em nível de 1%; <sup>ns</sup>não significativo. Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, diferem entre si pelo teste de Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade.

## Conclusões

- Microestacas provenientes de manivas cultivadas em casa de vegetação são explantes propícios para o estabelecimento *in vitro* de acessos de mandioca. No entanto, gemas da posição mais apical da planta influenciam significativamente a multiplicação e crescimento de plantas *in vitro*.

## Referências Bibliográficas

- FUKUDA, W.M.G. & BORGES, M. de F. Variação do teor e rendimento de farinha de mandioca em função da variedade e idade de colheita. **Revista Brasileira de Mandioca**, v.10, n.1/2, p.87-95, 1991.
- FUKUDA, W.M.G.; COSTA, I.R.S.; SILVA, S. de O. **Manejo e Conservação de Recursos Genéticos de Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**. (Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Circular técnica, 74), 4 p., 2005.
- MALOSSO, M.G.; BARBOSA, E.P.; NAGAO, E.O. Micropropagação de jambu [*Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.10, n.3, p.91-95, 2008.
- PIZA, I.M. de T. & PINHO, R.S. Série: **Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas**. Fundação Cargill, v. 2, p. 179-187, 2002.
- SCHERWINSKI-PEREIRA, J.E.; FRANÇA, R.B.; DANTAS, A.C.M. *et al.* Influência do número de gemas, presença ou ausência de folhas e posição do explante na multiplicação *in vitro* da batata. **Horticultura Brasileira**, v.23, n.1, p.86-89, 2005.