



## EFEITO DO SORBITOL NA CONSERVAÇÃO *IN VITRO* DE *Manihot esculenta* Crantz.

Lívia de Jesus Vieira<sup>1</sup>, José Raniere Ferreira de Santana<sup>2</sup>, Ádila Melo Vidal<sup>3</sup>, Alfredo Augusto Cunha Alves<sup>4</sup>, Fernanda Vidigal Duarte Souza<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Aluna de doutorado em Biotecnologia - Universidade Estadual de Feira de Santana, liviabiol@gmail.com

<sup>2</sup> Professor da Universidade Estadual de Feira de Santana, jose.raniere@gmail.com

<sup>3</sup> Aluna de doutorado em Ciências Agrárias – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, amelovidal@yahoo.com.br

<sup>4</sup> Pesquisadores Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, alfredoalves3@gmail.com, fernanda@cnpmf.embrapa.br.

**Resumo:** A conservação de germoplasma *in vitro* se baseia em sistemas de crescimento lento das plantas conservadas e que podem ser obtidos de formas variadas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de sorbitol na redução do crescimento de plantas *in vitro* de mandioca. Como material vegetal foram utilizadas microestacas de plantas pré-estabelecidas *in vitro* do acesso BGM 1282, oriundo do BAG de mandioca da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Como meio básico utilizou-se o meio 8S constituído pelos sais minerais e vitaminas do “MS” e suplementado com ácido naftalenoacético (0,01 mg.L<sup>-1</sup>), 6-benzilaminopurina (0,02 mg.L<sup>-1</sup>), ácido giberélico (0,1 mg.L<sup>-1</sup>). Para avaliação do efeito do sorbitol no crescimento dos explantes de mandioca foram testadas cinco concentrações de sorbitol (0; 0,5; 1,25; 2,5 e 5,0 g L<sup>-1</sup>) no meio 8S suplementado com 20 g de sacarose, solidificado com 2 g/L de Phytigel<sup>®</sup>. Para avaliação do efeito isolado do sorbitol no explante foram utilizadas as mesmas concentrações em meio de cultura isento de sacarose. Foram avaliadas as variáveis altura da planta (cm); número de folhas total; número de folhas senescentes; número de estacas e presença de raiz. As avaliações foram realizadas após 30, 60 e 180 dias. De acordo com os resultados, as plantas que estavam no meio com concentração de 5 g/L de sorbitol e isento de sacarose foram as que mantiveram-se viáveis por um maior período. A sacarose promoveu maior desenvolvimento de estacas, folhas e raízes.

**Palavras-chave:** cultura de tecidos, mandioca, reguladores osmóticos

### Introdução

A mandioca pertence à ordem Malpighiales, família Euphorbiaceae, gênero *Manihot* e espécie *Manihot esculenta* Crantz, originária do Brasil, onde já foram catalogadas mais de 4000 variedades. A parte mais importante da planta são as raízes, tuberosas, ricas em amido, e utilizadas na alimentação



humana e animal, ou como matéria-prima para diversas indústrias (TIRITAN et al., 2009). A conservação de germoplasma é fundamental para a preservação de genótipos de mandioca e redução da erosão genética dessa espécie, além de disponibilizar aos melhoristas diversidade genética para o melhoramento genético da cultura. A conservação *in vitro* por cultura de tecidos é uma estratégia utilizada para manutenção dos bancos ativos de germoplasma, sendo que os principais métodos de conservação *in vitro* consistem em manter a planta em taxas de crescimento reduzido por meio da diminuição da temperatura de incubação, aplicação de retardantes osmóticos e hormonais ao meio de cultura, dentre outras possibilidades. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de sorbitol na redução do crescimento de plantas *in vitro* de mandioca visando maior eficiência na conservação *in vitro* do germoplasma desta espécie.

### **Materiais e Métodos**

Todo trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Como material vegetal foram utilizadas microestacas de plantas pré-estabelecidas *in vitro* do acesso BGM 1282 oriundo do BAG de mandioca. O meio de cultura básico usado foi o “8S”, desenvolvido no Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT, Cali, Colômbia, sendo constituído pelos sais minerais e vitaminas do “MS” e suplementado com ácido naftalenoacético – ANA (0,01 mg.L<sup>-1</sup>), 6-benzilaminopurina – BAP (0,02 mg.L<sup>-1</sup>), ácido giberélico – AG<sup>3</sup> (0,1 mg.L<sup>-1</sup>) e com o pH ajustado entre 5,7 e 5,8, solidificado com 2g/L de Phytigel<sup>®</sup>. Os tratamentos consistiram na adição de 20 g L<sup>-1</sup> de sacarose + cinco concentrações de sorbitol (0 g; 0,5; 1,25; 2,5 e 5,0 g L<sup>-1</sup>) e para avaliação do efeito isolado do sorbitol no explante, foi utilizado meio de cultura isento de sacarose com as mesmas cinco concentrações de sorbitol, totalizando 10 tratamentos avaliados. Para cada tratamento foram utilizadas três repetições, sendo cada repetição constituída por cinco plantas. Foram avaliadas as seguintes variáveis: altura da planta (cm); número de folhas total; número de folhas senescentes; número de microestacas; e presença de raiz. Os períodos de avaliação foram 30, 60 e 180 dias após incubação. Foi utilizado o programa SASagri para comparação das médias entre os tratamentos pelo teste de Scott-Knott 5% de probabilidade.

### **Resultados e Discussão**

Houve diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott entre todas as variáveis avaliadas. Os meios com presença da sacarose promoveram maior desenvolvimento das

plantas, expresso por maiores valores na altura da planta, no número de estacas, no número de folhas e na maior formação de raízes nas plantas (Tabela 1 e Figura 1).

**Tabela 1.** Média da altura, número de estacas (NE), número de folhas total (NFT), número de folhas senescentes (NFS) e número de raízes (NR) obtidas em plantas de mandioca em meio de cultivo com diferentes concentrações de sorbitol.

Tratamentos	Altura			NE		
	30 dias	60 dias	180 dias	30 dias	60 dias	180 dias
1. Sorbitol (0 g/L)	1,70 b	1,94 b	2,12 b	1,00 b	1,20 c	1,60 b
2. Sorbitol (0,5 g/L)	1,54 b	1,69 b	1,75 b	1,00 b	1,00 c	1,40 b
3. Sorbitol (1,25 g/L)	1,42 b	1,69 b	1,71 b	1,00 b	1,00 c	1,33 b
4. Sorbitol (2,5 g/L)	1,67 b	1,85 b	1,85 b	1,00 b	1,20 c	1,27 b
5. Sorbitol (5 g/L)	1,58 b	1,95 b	2,59 b	1,07 b	1,40 c	1,27 b
6. Sacarose (20 g/L) + sorbitol (0 g/L)	2,00 a	2,31 a	2,34 b	1,47 a	1,73 b	1,53 b
7. Sacarose (20 g/L) + sorbitol (0,5 g/L)	2,31 a	2,97 a	3,75 a	1,80 a	2,60 a	2,53 a
8. Sacarose (20 g/L) + sorbitol (1,25 g/L)	1,88 a	2,25 a	3,87 a	1,26 b	1,60 b	2,80 a
9. Sacarose (20 g/L) + sorbitol (2,5 g/L)	2,02 a	2,37 a	3,04 a	1,40 a	1,67 b	3,26 a
10. Sacarose (20 g/L) + sorbitol (5 g/L)	2,01 a	2,42 a	2,75 b	1,40 a	1,93 b	2,67 a

  

NFT			NFS			NR		
30 dias	60 dias	180 dias	30 dias	60 dias	180 dias	30 dias	60 dias	180 dias
0,33 b	1,07 b	2,06 b	0,00 b	0,27 b	1,53 b	0,07 b	0,07 b	0,20 b
0,27 b	0,53 b	1,13 b	0,00 b	0,13 b	1,00 b	0,00 b	0,00b	0,20 b
0,20 b	0,33 b	0,67 b	0,00 b	0,00 b	0,47 b	0,00b	0,00b	0,20 b
0,47 b	0,53 b	0,93 b	0,00 b	0,20 b	0,73 b	0,07 b	0,13 b	0,33 b
0,67 b	1,53 b	3,00 a	0,13 b	0,53 b	2,47 b	0,00 b	0,33 b	0,87 a
1,27 a	1,67 b	2,87 a	0,00 b	0,87 a	2,53 b	0,53 a	0,67 a	0,67 a
1,87 a	3,20 a	4,07 a	0,60 a	1,60 a	4,73 a	0,60 a	0,67 a	0,73 a
1,60 a	2,27 a	5,73 a	0,67 a	1,13 a	5,27 a	0,53 a	0,60 a	0,67 a
2,00 a	2,80 a	4,20 a	0,93 a	1,60 a	4,00 a	0,40 a	0,53 a	0,53 a
1,6 a	2,67 a	4,67 a	0,33 b	1,47 a	4,47 a	0,73 a	0,87 a	0,93 a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.



**Figura 1.** Explantes de mandioca em meio de cultivo com diferentes concentrações de sorbitol. De 1 a 5 meio sem sacarose: 1 - 0 g/L<sup>-1</sup>; 2 - 0,5 g/L<sup>-1</sup>; 3 - 1,25 g/L<sup>-1</sup>; 4 - 2,5 g/L<sup>-1</sup> e 5 - 5,0 g/L<sup>-1</sup>. De 6 a 10 meio com sacarose: 6 - 0 g/L<sup>-1</sup>; 7 - 0,5 g/L<sup>-1</sup>; 8 - 1,25 g/L<sup>-1</sup>; 9 - 2,5 g/L<sup>-1</sup> e 10 - 5,0 g/L<sup>-1</sup>



Para a escolha de um tratamento visando a redução do metabolismo das plantas *in vitro*, com vistas a uma conservação eficiente, deve-se considerar o conjunto das variáveis. As plantas não devem crescer muito, porém devem ter folhas verdes e microestacas em número satisfatório, que garantam o posterior resgate do material. Por outro lado quando o número de folhas senescentes se torna elevado, pode ser um indicativo da necessidade de um novo subcultivo.

Os tratamentos com presença de sacarose promoveram plantas com maior desenvolvimento de estacas, folhas e raízes (Tabela 1 e Figura 1), assim como maior senescência das plantas ao final da avaliação. Dentro das condições estabelecidas neste trabalho e, principalmente, no tempo estipulado para avaliação, o tratamento que se mostrou mais eficiente para os objetivos do trabalho foi o uso do meio sem sacarose com 5g/L de sorbitol. Neste tratamento se observou a redução do metabolismo, por meio da redução do crescimento das plantas, com menos folhas senescentes ao final da avaliação. Ainda que os resultados observados neste tratamento sejam similares ao tratamento com 20g/L de sacarose sem sorbitol o desenvolvimento das plantas com 5g/L de sorbitol foi muito mais lento considerando os três períodos de avaliação.

### **Conclusão**

A ausência de sacarose reduz o crescimento das plantas.

A concentração de 5g/L de sorbitol em ausência de sacarose foi a mais eficiente para a conservação do acesso avaliado por seis meses (180 dias).

### **Referências Bibliográficas**

SAS Agri. ALTHAUS, R.A., CANTERI, M.G., GIGLIOTI, E.A. Tecnologia da informação aplicada ao agronegócio e ciências ambientais: sistema para análise e separação de médias pelos métodos de Duncan, Tukey e Scott-Knott. Anais do X Encontro Anual de Iniciação Científica, Parte 1, Ponta Grossa, p.280-281, 2001.

TIRITAN, C. S. et al. *Avaliação dos parâmetros de desenvolvimento de doze cultivares de mandioca na região oeste paulista*. In: Congresso Brasileiro de Mandioca, 13. 2009. Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP. 2009. 1 CD-ROM.