



## INFLUÊNCIA DO NÚMERO DE EXPLANTE E DO VOLUME DO MEIO DE CULTURA NA MICROPROPAGAÇÃO DA MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz)

**Maria Inês de Souza Mendes<sup>1</sup>, Karen Cristina Fialho dos Santos<sup>2</sup>, Antônio da Silva Souza<sup>3</sup>, Honorato Pereira da Silva Neto<sup>4</sup>, Ádila Melo Vidal<sup>4</sup>, Kelly Anselmo de Souza<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Bacharel em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. E-mail: inessm.123@gmail.com

<sup>2</sup>Analista da *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Caixa Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas, BA. E-mail: karen.santos@embrapa.br

<sup>3</sup>Pesquisador da *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Caixa Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas, BA. E-mail: antonio.silva-souza@embrapa.br

<sup>4</sup>Estudantes de pós-graduação da *Universidade Federal do Recôncavo da Bahia*. E-mail: honopsn@yahoo.com.br; amelovidal@yahoo.com.br; kellysouza\_12@hotmail.com.

### Introdução

A mandioca (*Manihot esculenta*) é uma planta com alto teor de carboidratos e apresenta relevante capacidade de produção e adaptação às condições climáticas. A cultura proporciona inúmeras alternativas de aproveitamento, tanto dentro da propriedade rural quanto na indústria, para obtenção de vários produtos (NASSAR; ORTIZ, 2007), sendo a maior parte de sua produção utilizada para consumo humano.

Sua propagação é feita vegetativamente, a partir de estacas. No campo, esta propagação se dá de forma muito lenta e, várias doenças, principalmente as sistêmicas, podem ser transmitidas por meio de sucessivas gerações (OLIVEIRA et al., 2000).

O cultivo *in vitro* e subsequente micropropagação é uma técnica atualmente bem estabelecida para diversas espécies e visa a propagação clonal, eliminação de vírus, conservação de germoplasma, entre outros (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

A mandioca pode ser multiplicada por micropropagação. Entretanto, algumas cultivares não respondem de modo satisfatório, apresentando taxas de multiplicação mais baixas, trazendo dessa forma, sérios problemas em trabalhos que necessitam de plantas para propagação no campo (CABRAL et al., 2000).

Nesse sentido, esse trabalho teve como objetivo determinar condições adequadas para micropropagação de mandioca a partir da avaliação do volume do meio de cultura e do número de explantes que propiciem um melhor desenvolvimento das plantas *in vitro*.

## **Material e Métodos**

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos (LCT) da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Como material vegetal, foram utilizadas microestacas apicais de plantas previamente cultivadas in vitro de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), variedade Olho Roxo (BGM 0036). Os explantes foram extraídos em câmara de fluxo laminar, contendo aproximadamente 1,5 cm de comprimento.

Em diferentes números por tratamento (1, 2, 3 e 4), as microestacas foram introduzidas em volumes de 5 mL, 10 mL e 15 mL do meio de cultura 17 N (CIAT, 1982), em tubo de ensaio de 25 mm x 150 mm. Os meios foram solidificados com ágar ( $7 \text{ g.L}^{-1}$ ) e tiveram o pH ajustado para 5,7 antes da autolavagem. Em seguida, o material foi mantido em sala de crescimento com temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , densidade de fluxo de fótons de  $30 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 16 horas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 3 (números de explantes x volumes do meio de cultura), com cinco repetições. Após um período de 60 dias, foram feitas as avaliações, analisando-se as variáveis: número de ápices (NA), número de folhas mortas (NFM), número de folhas vivas (NFV), número de microestacas (NM), altura da parte aérea (APA) em cm e comprimento de raiz (CR) em cm. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa SAS – Statistical Analysis System (SAS INSTITUTE, 2004).

## **Resultados e Discussão**

A variável comprimento de raiz apresentou efeito significativo a 1% de probabilidade para o fator número de explantes e a 5% de probabilidade com relação ao volume do meio de cultura, pelo teste de Tukey. As demais variáveis (NA, NFM, NFV, NM e APA) não apresentaram efeitos significativos para nenhum dos fatores analisados (Tabela 1).

**Tabela 1.** Análise de variância de diferentes volumes do meio de cultura e número de explantes por tubo para as variáveis NA (número de ápices), NFM (número de folhas mortas), NFV (número de folhas vivas), NM (número de microestacas), APA (altura da parte aérea) e CR (comprimento da raiz), em plantas micropropagadas da mandioca ‘Olho Roxo’

FV	GL	QM					
		NA	NFM	NFV	NM	APA	CR
NEX	3	0,0102 <sup>ns</sup>	0,9382 <sup>ns</sup>	4,1743 <sup>ns</sup>	6,1420 <sup>ns</sup>	7,7126 <sup>ns</sup>	16,1995*
VOL	2	0,0264 <sup>ns</sup>	0,1006 <sup>ns</sup>	3,1381 <sup>ns</sup>	1,3623 <sup>ns</sup>	26,3555 <sup>ns</sup>	57,4653**
NEX x VOL	6	0,0093 <sup>ns</sup>	0,6750 <sup>ns</sup>	1,9056 <sup>ns</sup>	4,2146 <sup>ns</sup>	5,1693 <sup>ns</sup>	9,0409 <sup>ns</sup>
Erro	135	0,0136 <sup>ns</sup>	1,9973 <sup>ns</sup>	1,9678 <sup>ns</sup>	2,9165 <sup>ns</sup>	10,2991 <sup>ns</sup>	6,1115 <sup>ns</sup>
C.V (%)		3,38	49,20	27,15	19,65	75,71	44,57
Média Geral		1,0136	0,8503	2,6395	4,3673	4,2388	5,5463

\* e \*\* significativo a 1% e 5% de probabilidade pelo teste de Tukey respectivamente, ns não significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A maior média para o comprimento da raiz foi obtida no volume de 15 mL do meio de cultura 17 N (Tabela 2). Os valores obtidos para os volumes de 5 mL e 10 mL, os quais apresentaram médias inferiores em relação ao maior volume de meio utilizado, não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Esses valores podem ser atribuídos à disponibilidade de macro, micronutrientes e vitaminas presentes no meio de 15 mL, e ao maior espaço físico proporcionado pelo maior volume de meio, que pode ter favorecido o desenvolvimento da raiz para esta variedade utilizada.

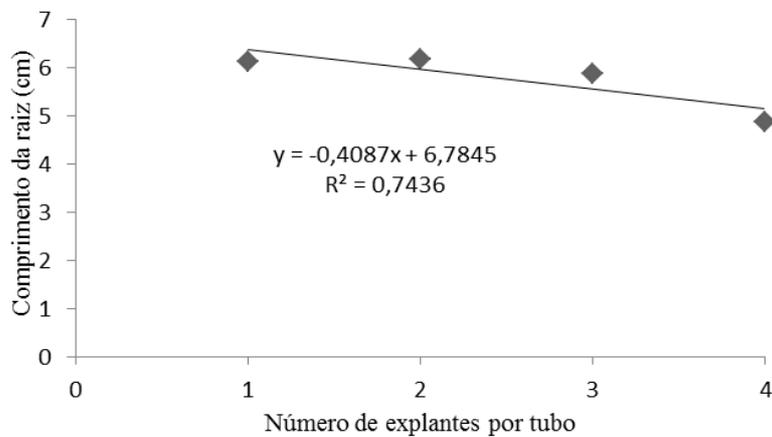
**Tabela 2.** Comprimento da raiz (cm) em função do volume do meio de cultura (mL) utilizado na micropropagação da variedade de mandioca Olho Roxo

Volume (mL)	Médias
5	4,56 b
10	5,36 b
15	6,69 a

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na equação de regressão de segundo grau é possível observar que o comprimento da raiz atinge maior tamanho no cultivo de um explante por tubo. Esse comprimento diminui conforme o aumento do número de explantes (Figura 1). Considerando as concentrações e

disponibilidade de nutrientes, no sentido de satisfazer as necessidades nutricionais dos explantes, nos tubos com maiores números de microestacas e, conseqüentemente, de plantas, pode ter havido uma redução no desenvolvimento das raízes.



**Figura 1.** Comprimento da raiz (cm) de plantas micropropagadas de mandioca ‘Olho Roxo’ em função do número de explantes cultivados por tubo.

### Conclusões

O volume de 15 mL do meio de cultura 17N e apenas um explante por tubo é o mais indicado para um maior desenvolvimento de raízes da variedade de mandioca Olho Roxo.

### Agradecimentos

À equipe do LCT pela contribuição e a Embrapa Mandioca e Fruticultura por permitir a realização deste estudo.

### Referências

CABRAL, G. B.; CARVALHO, L. J. C. B.; SCHAAL, B. A. Root induction of wild species of *Manihot* under *in vitro* culture. In: CARVALHO, L. J. C. B.; THRO, A. M.; VILARINHOS, A. D. (Ed.). INTERNATIONAL SCIENTIFIC MEETING CASSAVA BIOTECHNOLOGY, 4., 2000, Salvador. **Proceedings... Brasília, DF: Embrapa-Cenargen**, 2000. p. 383-387.

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).

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C., CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (ED.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília-DF: Embrapa SPI/Embrapa-CNPH, 1998. v 1, p. 183-260.

NASSAR, N. M. A.; ORTIZ, R. Cassava improvement: challenges and impacts. **Journal of Agricultural Science**, v. 145, p. 163-171, 2007.

OLIVEIRA, R. P.; GOMES, T. S.; VILARINHOS, A. D. Avaliação de um sistema de micropropagação massal de variedades de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.12, p.2329-2334, 2000.

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