

Influência do ácido abscísico na micropropagação da cultura da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)

Aurora Yoshiko Sato^{1*}, José Maria¹, Tocio Sedyama¹, Aluizio Borém¹, Paulo Roberto Cecon² e Cristina Salgado Junqueira¹

¹Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa. Av. P. H. Rolfs, s/n, 36571-000. Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

²Departamento de Informática, Universidade Federal de Viçosa. Av. P. H. Rolfs, s/n, 36571-000. Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

*Author for correspondence.

RESUMO. O presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito do ABA na micropropagação da mandioca, *Manihot esculenta* (Euphorbiaceae). Foram utilizados propágulos do cultivar Mantiqueira. O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (0; 0,1; 1,0; e 10,0 mg/L de ABA) e 10 repetições. Os dados das características avaliadas (número de folhas e de raízes; o comprimento da parte aérea e das raízes, e o peso da matéria seca total) foram submetidos à análise de variância e análise de regressão, em função das concentrações de ABA. Foram escolhidos modelos, com base no coeficiente de determinação e na significância dos coeficientes de regressão por meio do teste t de Student, a 1% de probabilidade. Nos casos em que não foram obtidos bons ajustes para as regressões, os dados foram discutidos com base em análise descritiva. O ABA inibiu o crescimento dos propágulos de mandioca.

Palavras-chave: micropropagação, ácido abscísico, mandioca.

ABSTRACT. Effect of abscisic acid on micropropagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). ABA effect on micropropagation of Mantiqueira cassava, *Manihot esculenta* (Euphorbiaceae), is provided. An entirely randomized design with 10 replications and four treatments (0; 0.1; 1.0 and 10.0 mg/L of ABA) was statistically delineated. Data of characteristics (number of leaves and roots; length of aerial part and roots; weight of total dry matter) underwent variance and regression analyses according to ABA concentrations. Models were chosen on determination coefficient and on the significance of regression coefficients by Student's t test at 1% probability. When good adjustments for regressions failed, data were discussed according to descriptive analysis. Results indicate that ABA inhibits cassava seedling growth.

Key words: micropropagation, abscisic acid, cassava.

O ácido abscísico (ABA) é um regulador de crescimento de plantas que pode estar envolvido no controle de muitos processos fisiológicos, tais como a abertura de estômatos, a síntese de proteínas de estoque de sementes, a inibição da germinação de embriões imaturos, o estresse hídrico e a tolerância ao déficit de água. Enquanto algumas dessas respostas ao ABA podem ser rápidas, em questão de minutos, como é o caso do fechamento de estômatos, por exemplo, outras podem ser mais demoradas e são conhecidas por requererem mudanças na expressão gênica. Entretanto, dos mecanismos de percepção de sinal hormonal, a rota de transdução ainda permanece obscura em muitos aspectos.

Muitos estudos têm apontado o ABA como inibidor do crescimento da raiz (Pilet e Barlow,

1987). Entretanto, alguns estudos mostram aumento no crescimento da raiz em presença do ABA, especialmente em baixas concentrações (Yamaguchi e Street, 1977).

Segundo Ammirato (1982), o ABA a 1 μM tem induzido a tuberação de caules nodais de *Dioscorea bulbifera* e *D. alata* (Dioscoreaceae) cultivadas sob luz contínua. Em outras espécies de *Dioscorea*, o ABA a 0,4 μM inibiu a formação de calo induzido pelo ANA, enquanto ainda promovia a iniciação e o desenvolvimento de tubérculos. Jean e Cappadocia (1992), trabalhando com ABA, não conseguiram induzir a tuberação na batata-doce, mas houve tendência de aumento no número de tubérculos com o aumento na concentração de ABA no meio de cultura. Segundo Alizadeh *et al.* (1998), o efeito inibitório do regulador aplicado exogenamente na

Dioscorea composita pode ser utilizado no prolongamento da armazenagem de microtubérculos. O estudo do efeito do ABA no enraizamento e formação de microtubérculos em algumas espécies de *Dioscorea* também seria importante no estudo da cultura da mandioca. Além de o efeito inibitório deste regulador de crescimento no desenvolvimento *in vitro* poder ser utilizado na manutenção de bancos de germoplasma de mandioca.

Ao se vislumbrar o potencial deste regulador de crescimento na elucidação de alguns processos fisiológicos e sua utilização prática na micropropagação, este trabalho objetivou estudar o efeito de diversas concentrações de ABA na multiplicação *in vitro* da mandioca, *Manihot esculenta* (Euphorbiaceae).

Material e métodos

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Progenie de Hortaliças do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, Estado de Minas Gerais. Foram utilizados propágulos micropropagados da cultivar de mandioca Mantiqueira fornecidos pelo Laboratório de Cultura de Tecidos da Universidade Federal de Lavras. Este material vegetal, depois de multiplicado, foi repicado em segmentos nodais com aproximadamente 1 cm de comprimento contendo uma folha e foram inoculados em meio básico de Murashige e Skoog (1962), com as diversas concentrações de ABA (\pm cis, trans, 99%, Sigma), dissolvido em NaOH 1N e mantidas em câmara de crescimento a $26 \pm 2^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa mínima de $36\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ durante 30 dias. O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (0; 0,1; 1,0; e 10,0mg/L de ABA) e 10 repetições.

Para avaliar o crescimento, foi observado o número de folhas (NF) e de raízes (NR). As raízes foram contadas destacando-as do caule; o comprimento da parte aérea (CPA) e das raízes (CR), a partir do propágulo inicial, foi medido com régua após serem destacadas, e o peso da matéria seca total (MS), a partir do material coletado e secado em estufa com circulação de ar a 75°C por 48 horas. Os dados dessas características foram submetidos à análise de variância e análise de regressão, em função das concentrações de ABA. Foram escolhidos modelos, com base no coeficiente de determinação e na significância dos coeficientes de regressão por meio do teste t de Student, a 1% de probabilidade. Nos casos em que não foram obtidos bons ajustes para as regressões, os dados foram discutidos com base em análise descritiva.

Após a secagem do material vegetal em estufa com circulação de ar a 65°C por 72 horas, foram determinadas as concentrações de P, K, Ca, Mg, S, Zn, Cu, Mn e Fe extraídos por digestão nítrico-perclórica e analisados por espectrofotometria de absorção atômica (Braga e Defelippo, 1974; Chesnin e Yien, 1950). O N extraído por digestão sulfúrica foi analisado conforme metodologia descrita por Jackson (1958).

Resultados

Na Tabela 1, pode-se observar que, para as características estudadas (NF, CPA, NR, CR e MS), o comportamento geral foi o mesmo. A partir da testemunha, houve decréscimo para os tratamentos onde se utilizaram concentrações de ABA indicando o seu efeito inibitório. Da testemunha para a concentração de 0,1mg/L, por exemplo, houve diminuição acentuada dos valores: 67% para o número de folhas, 70% para o número de raízes, 93% para o comprimento da parte aérea e 79% para o peso da matéria seca.

Tabela 1. Número médio de folhas (NF) e de raízes (NR), comprimento da parte aérea (CPA) e de raízes (CR) e peso de matéria seca (MS) de propágulos de mandioca, cultivar Mantiqueira, sob diferentes concentrações de ABA

ABA (mg/L)	NF	NR	CPA (cm)	CR (cm)	MS (mg)
0	4,50 \pm 0,85	9,30 \pm 2,06	7,65 \pm 1,93	5,63 \pm 2,14	403,30 \pm 103,77
0,1	1,50 \pm 1,08	2,80 \pm 1,23	0,53 \pm 0,27	5,44 \pm 2,44	85,30 \pm 24,89
1,0	2,70 \pm 1,77	5,80 \pm 1,93	2,30 \pm 1,97	4,43 \pm 2,18	163,50 \pm 119,69
10,0	0,67 \pm 0,61	2,83 \pm 1,28	0,34 \pm 0,11	0,39 \pm 0,17	54,33 \pm 7,57

Média \pm desvio-padrão.

Na análise de regressão para comprimento de raízes da testemunha, para a maior concentração de ABA (10 mg/L), observou-se diminuição de 93% (5,63 cm da testemunha para 0,39 cm na concentração de 10,0mg/L) (Figura 1).

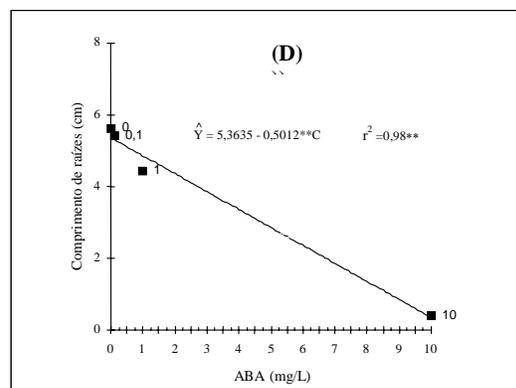


Figura 1. Estimativa do comprimento de raízes de propágulos de mandioca, cultivar Mantiqueira, em função de concentrações de ABA

Quanto à análise mineral para P, Mn e Zn, os valores decresceram a partir da testemunha até a concentração de 10 mg/L (Tabela 2). Para o Fe, na concentração de 0,1 mg/L (602,49 ppm), verificou-se concentração bastante elevada em relação aos demais tratamentos (0-259,13 ppm, 1,0-185,87 ppm e 10-197,83 ppm de Fe);. Com o Cu, as maiores concentrações estiveram em torno da testemunha (5,07 ppm) e da concentração de 10 mg/L de ABA (4,35 ppm), a concentração do K permaneceu praticamente constante em todas as concentrações.

Tabela 2. Análise de macro e micronutrientes de propágulos de mandioca, cultivar Mantiqueira, sob efeito de diversas concentrações de ABA

ABA (mg/L)	P — dag kg ⁻¹	K de matéria seca	Ca	Mg	S	Mn	Fe	Cu	Zn
	_____ ppm								
0	0,86	2,51	0,46	0,25	0,61	350,0	259,1	5,1	227,2
0,1	0,63	2,48	0,35	0,22	-	202,1	602,5	2,1	222,9
1,0	0,63	2,38	0,47	0,19	0,35	258,7	185,9	2,6	210,9
10,0	0,37	2,44	0,33	-	0,40	206,5	198,8	4,4	97,8

Discussão

Pelos resultados encontrados, observa-se o efeito abscísico do regulador de crescimento, pois, mesmo em condição hídrica satisfatória, as plantas se comportaram como se estivessem em estresse hídrico, perdendo as folhas iniciais e apresentando número de folhas inferior ao da testemunha em todas as concentrações. Alizadeh *et al.* (1998), em *Dioscorea composita*, também observaram forte efeito inibitório do ABA, porém com a presença de microtubérculos que não foram observados no presente trabalho. A concentração de 10mg/L foi totalmente inibitória, talvez até tóxica para a mandioca. Concentrações menores talvez sejam recomendados para melhor avaliação de efeitos fisiológicos. Segundo Hooker e Thorpe (1998), o ácido abscísico pode estar envolvido no controle do desenvolvimento do sistema radicular mediado pela dominância apical. Neste aspecto, a característica comprimento da raiz e número de raízes apresentou comportamento que não permitiu conclusão satisfatória quanto a este envolvimento fisiológico do ABA.

Quanto a avaliação dos macro e micronutrientes, pôde-se observar, em geral, que houve diminuição da absorção dos nutrientes com o aumento da concentração de ABA, com exceção do K. Essa

tendência pode estar relacionada com o fechamento dos estômatos devido à presença do ABA, pois diminuindo a transpiração, a absorção de água e, conseqüentemente, de nutrientes é interrompida devido à falta de gradiente de pressão. A estabilidade do potássio, nas concentrações de ABA, pode estar relacionada com o seu papel na ação do ácido abscísico no que se refere ao fechamento dos estômatos, sendo, desta maneira, requerido pela planta (Taiz e Zeiger, 1991).

Referências

- ALIZADEH, S. et al. *In vitro* shoot culture and microtuber induction in steroid yam *Dioscorea composita* Hemsl. *Plant Cell, Tissue Organ Cult.*, Dordrecht, v.53, p.107-112, 1998.
- AMMIRATO, P.V. Growth and morphogenesis in cultures of the monocot yam *Dioscorea*. In: FUJIWARA, A (Ed.). *Plant tissue culture*. Tokyo: Maruzen, p.169-170, 1982.
- BRAGA, J.M.; DEFELIPPO, B.V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em estratos de solos e plantas. *Revista Ceres*, Viçosa, v.21, n.113, p.73-85, 1974.
- CHESNIN, L.; YIEN, C.H. Turbidimetric determination of available sulfate. *Soil Sci. Am. Proceed.*, Baltimore, v.15, n.1, p.149-151, 1950.
- HOOKER, T.S.; THORPE, T.A. Effects of fluridone and abscisic acid on lateral root initiation and root elongation of excised tomato roots cultured *in vitro*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, Dordrecht, v.52, n.3, p.199-203, 1998.
- JACKSON, M.L. Nitrogen determination for soil plant tissue. In: JACKSON, M.L. (Ed.). *Soil and chemical analysis*. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1958. p.183-204.
- JEAN, M.; CAPPADOCIA, M. Effects of some growth regulator on *in vitro* tuberization in *Dioscorea alata* L. 'Brazo fuerte' and *D. abyssinica* Hoch. *Plant Cell Rep.*, Berlin, v.11, n.1, p.34-38, 1992.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, Lund, v.15, p.473-497, 1962.
- PILET, P.E.; BARLOW, P.W. The role of abscisic acid in root growth and gravireaction: A critical review. *J. Plant Growth Regul.*, New York, v.6, p.217-265, 1987.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Plant physiology*. California: The Benjamin Cummings, 1991.
- YAMAGUCHI, T.; STREET, H.E. Stimulation of the growth of excised cultured roots of soybean by abscisic acid. *Ann. Bot.*, Elmont, v.41, n.17, p.1129-1133, 1977.

Received on November 20, 2000.

Accepted on May 15, 2001.