

# Estabelecimento e conservação in vitro de acessos de mandioca (*Manihot* spp.) pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Semiárido

*Jullie Cryscelle Leandro Silva*<sup>1</sup>; *Nilson José Frutuoso da Silva*<sup>1</sup>; *Irlane Cristine Souza Andrade Lira*<sup>2</sup>; *Rafaela Priscila Antonio*<sup>3</sup>; *Natoniel Franklin de Melo*<sup>4</sup>

## Resumo

Este trabalho teve como objetivo o estabelecimento in vitro de acessos de Mandioca do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) pertencentes à coleção da Embrapa Semiárido. Explantes de cada acesso foram introduzidos em tubos de ensaio contendo meio de cultura MS suplementado com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 0,04 mg.L<sup>-1</sup> de BAP (benzilaminopurina), 0,05 mg.L<sup>-1</sup> de GA3 (ácido giberélico) e 0,02 mg.L<sup>-1</sup> de ANA (ácido naftalenoacético) e mantidos por 60 dias em sala de crescimento com controle de temperatura, fotoperíodo e luminosidade. Após este período, foram avaliadas as variáveis: sobrevivência (%), contaminação (%), número de brotos produzidos e enraizamento (%). Durante o estabelecimento in vitro, cerca de 24% dos 148 acessos de mandioca apresentaram contaminação endógena por fungos ou bactérias. Observaram-se diferentes respostas entre acessos na produção de novas brotação, destacando-se nove acessos com valores médios de multiplicação de 4 brotos/explante, seguidos de 17 acessos com 3 brotos/explante, 31 acessos com 2 brotos/explante, 54 acessos com 1 broto/explante e 37 acessos que não apresentaram brotação. Essa diferença de resposta pode ser

<sup>1</sup>Estudante de Ciências Biológicas – UPE, estagiário(a) da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

<sup>2</sup>Bióloga, doutoranda da Uefs, Feira de Santana, BA.

<sup>3</sup>Engenheira-agrônoma, D.Sc. em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, rafaela.antonio@embrapa.br.

<sup>4</sup>Biólogo, D.Sc. em Ciências Biológicas/Genética, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, natoniel.melo@embrapa.br.

associada à diversidade genética dos diferentes materiais. O cultivo in vitro dos genótipos do BAG de mandioca é viável, sendo necessária uma maior atenção à qualidade fitossanitária das plantas matrizes.

**Palavras-chave:** micropropagação, germoplasma, mandioca, brotação.

## Introdução

No Brasil estão localizados alguns dos mais importantes bancos de germoplasma de mandioca distribuídos em diversas unidades de pesquisa, onde a principal razão para o estabelecimento e manutenção do germoplasma é a conservação da variabilidade genética da espécie (Costa et al., 2012). O principal tipo de conservação ainda é realizado no campo de forma ex situ, onde os genótipos são mantidos in vivo para disponibilização futura e imediata. Contudo, nesse tipo de conservação há algumas limitações relacionadas à exposição dos materiais a agentes bióticos e abióticos, necessidade de mão de obra especializada, área disponível e um elevado investimento financeiro.

A conservação in vitro apresenta-se como uma alternativa, pois permite manter e multiplicar genótipos de modo eficiente e ágil em um reduzido espaço de armazenamento, permitindo ainda a rápida multiplicação de material vegetal livre de patógenos independentemente das condições climáticas (Loyola-Vargas; Ochoa-Alejo, 2018).

Com este trabalho, objetivou-se estabelecer plantas in vitro de acessos de mandioca do BAG da Embrapa Semiárido visando consolidar uma alternativa de conservação e multiplicação.

## Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE. Para o estabelecimento in vitro, foram selecionados 148 acessos do BAG de *Manihot*, dos quais foram coletadas manivas para enraizamento em substrato em base de areia, solo e húmus (2:2:1).

Após o enraizamento das manivas e crescimento das plantas, brotos apicais e nodais (explantes) foram isolados com auxílio de lâmina de bisturi e desinfestados em soluções contendo álcool etílico 70%, cloridrato de kasugamicina 1% e hipoclorito de sódio (NaClO) 0,5%. Logo após, os segmentos foram lavados três vezes em água destilada autoclavada sob agitação. Posteriormente, quatro explantes de cada acesso foram isolados e introduzidos

em tubos de ensaio contendo meio de cultura de Murashige e Skoog (1962) suplementado com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 0,04 mg.L<sup>-1</sup> de BAP (benzilamino-purina), 0,05 mg.L<sup>-1</sup> de GA3 (ácido giberélico), 0,02 mg.L<sup>-1</sup> de ANA (ácido naftalenoacético) e 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar com pH ajustado para 5,9 antes da autoclavagem a 121 °C (1 kgf/cm<sup>2</sup>).

Os explantes de cada acesso foram mantidos em sala de crescimento sob temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons 40 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> por 60 dias. Após este período, foram avaliadas as variáveis taxa de sobrevivência (%), contaminação (%), número de brotos e enraizamento (%).

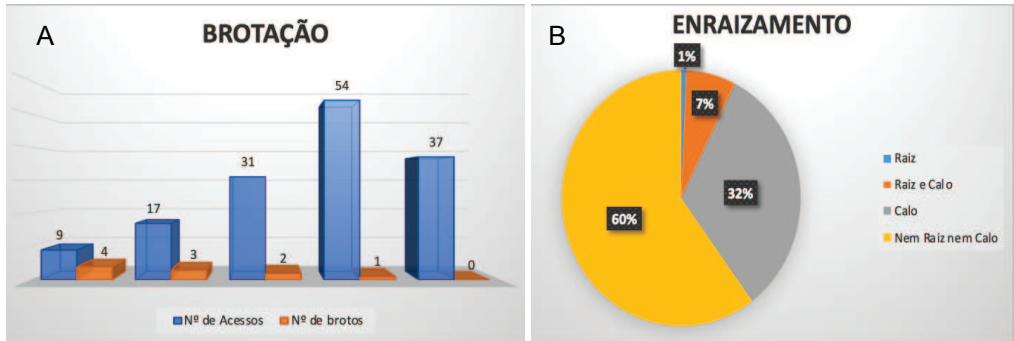
## Resultados e Discussão

Considerando-se as condições de cultivo in vitro, dos 148 acessos de mandioca estudados neste trabalho, observou-se que 24% apresentaram contaminação endógena por bactérias ou fungos durante o estabelecimento in vitro.

Após 60 dias de cultivo in vitro, observou-se diferentes respostas entre acessos na produção de novas brotações, destacando-se nove acessos (07, 68, 81, 96, 209, 282, 339, 365 e 434) com valores médios de multiplicação de 4 brotos/explante, seguidos de 17 acessos com 3 brotos/explante, 31 acessos com 2 brotos/explante, 54 acessos com 1 broto/explante e 37 acessos que não apresentaram brotação (Figura 1A).

Essa diferença no nível de resposta pode ser associada à diversidade genética dos diferentes materiais. Sá et al. (2018), por exemplo, relataram diferentes respostas no cultivo in vitro de espécies de *Manihot* em cinco tipos de meios de cultura, ressaltando que não é possível generalizar um único meio para o cultivo in vitro de genótipos do gênero, além da importância de se ajustar um meio nutricional para cada espécie ou para um grupo de genótipos.

Quanto ao enraizamento aos 60 dias de cultivo in vitro, foi observado que apenas 1% dos acessos desenvolveu raiz, enquanto 32% desenvolveram calos, 7% desenvolveram raízes e calos e 60% não desenvolveram nem raiz nem calo (Figura 1B). Entretanto, após 90 dias de cultivo, todos os acessos desenvolveram raízes isoladas ou associadas a calos, provavelmente pela indução de auxinas endógenas produzidas nas brotações desenvolvidas in vitro (Figura 2).



**Figura 1.** Número médio de brotações (A) e enraizamento (B) de acessos de *Manihot* do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Semiárido 60 dias após o estabelecimento in vitro a partir de segmentos nodais.



**Figura 2.** Enraizamento de acessos de *Manihot* do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Semiárido 90 dias após o estabelecimento in vitro a partir de segmentos nodais.

## Conclusão

Nas condições em que o estudo foi realizado, o cultivo in vitro dos acessos do BAG de mandioca é viável, sendo necessária uma maior atenção à qualidade fitossanitária das plantas matrizes.

## Referências

COSTA, A. M.; SPEHAR, C. R.; SERENO, J. R. B. (Ed.). **Conservação de recursos genéticos no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. 672 p.

LOYOLA-VARGAS, V. M.; OCHOA-ALEJO, N. An Introduction to plant tissue culture: advances and perspectives. In: LOYOLA-VARGAS, V.; OCHOA-ALEJO, N. (Ed.). **Plant cell culture protocols: methods in molecular biology**. New York: Humana Press, 2018. p. 3-13.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-479, 1962.

SÁ, J. F. S.; SAMPAIO, E. S.; MENDES, M. I. S.; SANTOS, K. C. F.; SOUSA, A. S.; LEDO, C. A. S. Culture media for the multiplication of wild *Manihot* species. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 42, n. 6, p. 598-607, 2018.