

Otimização e aplicação de técnicas de cultura de tecidos para conservação do germoplasma de mandioca

Mariana Conceição Menezes¹; Deyse Maria de Souza Silveira²; Alex Vinicius de Oliveira da Silva³; Vanderlei da Silva Santos⁴; Antônio da Silva Souza⁴

¹Estudante de Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, bolsista IC-Fapesb; ²Estudante de Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; ³Estudante do Ensino Médio, bolsista IC Junior-Fapesb; ⁴Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura. E-mails: marimenezes_6@hotmail.com, deyse_mss@hotmail.com, vssantos@cnpmf.embrapa.br, assouza@cnpmf.embrapa.br

Embora produza sementes, a mandioca é convencionalmente propagada de forma vegetativa. Em razão disso, os clones de mandioca sofrem degenerescência, causada por patógenos e insetos-praga. Isso é especialmente importante na conservação de germoplasma, dada a importância de cada genótipo, que nesse contexto, é denominado acesso. O cultivo *in vitro* pode contribuir de várias maneiras na conservação de germoplasma, entre elas diminuindo a probabilidade de perdas de acessos, tanto por possibilitar a existência, em laboratório, de uma cópia de cada um dos acessos mantidos no campo, quanto por permitir a recuperação do vigor de clones degenerados. Além disso, o intercâmbio, principalmente internacional, de germoplasma de espécies de propagação vegetativa, é feito mediante o uso de plantas *in vitro*. A Embrapa Mandioca e Fruticultura possui um banco de germoplasma de mandioca, composto por 1.340 acessos, provenientes de várias partes do Brasil, os quais têm sido conservados exclusivamente em condições de campo, e estão, portanto, vulneráveis às ameaças já mencionadas. Sendo assim, desde 2010, tem-se feito um esforço para estabelecer *in vitro* uma cópia de cada um desses acessos. O trabalho está sendo realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Mandioca e Fruticultura. As etapas do trabalho são descritas a seguir: inicialmente, brotos são coletados no campo ou casa de vegetação e colocados em água destilada, para evitar que se desidratem. Em condições assépticas, no interior de câmara de fluxo laminar, eles são desinfestados e os ápices caulinares isolados e estabelecidos *in vitro* em tubos contendo o meio de cultura 4E, constituído pelos sais do MS, suplementado com 1 mg L⁻¹ de tiamina, 100 mg L⁻¹ de inositol, 0,02 mg L⁻¹ de ANA, 0,04 mg L⁻¹ de BAP e 0,05 mg L⁻¹ de AG₃, 20 g L⁻¹ de sacarose, gelificado com 7 g L⁻¹ de ágar e pH ajustado entre 5,7 e 5,8. Após a introdução dos ápices caulinares, os tubos são transferidos para sala de crescimento, a 27±1°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 30 μmol m⁻² s⁻¹. Aproximadamente 10 dias após a introdução dos ápices caulinares, os brotos obtidos são transferidos para novo meio 4E. Quando estes atingem um tamanho entre 1,0 cm e 1,5 cm, são transferidas para o meio MS 0,01, que difere do meio 4E apenas na concentração dos reguladores de crescimento, que passam a ser 0,01 mg.L⁻¹ de ANA, BAP e AG₃, no qual são subcultivados por duas vezes e em seguida transferidos para o meio 8S. Este meio tem a mesma composição dos anteriores, porém é suplementado com 0,01 mg.L⁻¹ de ANA, 0,02 mg L⁻¹ de BAP e 0,1 mg L⁻¹ de AG₃. Após enraizarem na sala de crescimento, três tubos de cada acesso, cada um contendo três plantas, são transferidos para a sala de conservação, a 22±1°C. Até o momento, foram colocados *in vitro* 186 acessos, dos quais 46 ainda estão em meio 4E e 140 na fase de enraizamento. Destes, 125 já foram transferidos para a sala de conservação.

Palavras-chave: *Manihot esculenta* Crantz; cultura de ápices caulinares; micropropagação; preservação *in vitro* de germoplasma; meios de cultura