

## Adequação de ferramentas biotecnológicas para limpeza de doenças e duplicação cromossômica em mandioca

Mariane de Jesus da Silva de Carvalho<sup>1</sup>; Antônio da Silva Souza<sup>2</sup>; Eder Jorge de Oliveira<sup>2</sup>; Saulo Alves Santos de Oliveira<sup>2</sup>; Vanessa Barbosa Gomes<sup>3</sup>; Camila Rodrigues Pinto<sup>4</sup>; Priscila Teixeira das Neves<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Estudante de Doutorado da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; <sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura; <sup>3</sup>Estudante de Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; <sup>4</sup>Bolsista Junior da Embrapa Mandioca e Fruticultura. E-mails: marianejs@yahoo.com.br, antonio.silva-souza@embrapa.br, eder.oliveira@embrapa.br, saulo.oliveira@embrapa.br, nessynha.gomes@hotmail.com, camilarodrigues80@hotmail.com, pry.linda\_10@hotmail.com

Foram abordadas duas estratégias biotecnológicas para resolução de problemas fitossanitários e de melhoramento genético na cultura da mandioca. A primeira estratégia refere-se à mitigação da doença conhecida como couro de sapo (“Cassava frogskin disease”, CFSD), que reduz a produtividade de raízes e as tornam fibrosas, sem acúmulo de amido. A segunda estratégia biotecnológica refere-se à poliploidização de mandioca. Assim, este trabalho tem como objetivos: desenvolver metodologia para limpeza de variedades a partir do cultivo *in vitro* de ápices caulinares, com uso da termoterapia e do antibiótico tetraciclina; e estabelecer metodologias para indução de poliploidia. Para atingir o primeiro objetivo, utilizou-se como material vegetal manivas provenientes de plantas adultas com sintomas de couro de sapo. Essas manivas foram estabelecidas em vasos contendo substrato comercial e submetidas ao processo de termoterapia com diferentes temperaturas. Posteriormente, manivas de diferentes acessos foram mantidas em câmara climatizada com temperatura de  $38 \pm 1$  °C, estabelecida nos ensaios de termoterapia, e fotoperíodo de 16 horas para brotação. Brotos com aproximadamente 2 cm de comprimento foram coletados e em seguida desinfestados em câmara de fluxo laminar. Em seguida foi feita a retirada dos ápices caulinares com 0,2 mm; 0,5 mm e 1,0 mm de comprimento, para inoculação em meio de cultura com o antibiótico tetraciclina (0 ppm; 2,5 ppm; 5 ppm e 10 ppm), com incubação em sala de crescimento. Aos 45 dias, os explantes foram transferidos para o meio de multiplicação com as mesmas concentrações de tetraciclina. Aos 60 dias de cultivo avaliou-se a viabilidade das plantas regeneradas, para posterior subcultivo. Utilizou-se apenas uma microestaca apical de cada planta, que foi cultivada em meio sem tetraciclina. Para a realização da segunda estratégia foram introduzidos *in vitro* 646, 298 e 422 ápices caulinares das variedades BRS Formosa, Fécula Branca e BRS Jari, respectivamente, que deram origem, a 1074, 150 e 816 plantas, respectivamente. Estas plantas serão utilizadas nos ensaios de autoploidia, mediante o uso dos agentes antimitóticos colchicina e orizalina que possuem afinidade com o fuso, particularmente com a tubulina, inibindo a sua formação e, conseqüentemente, a divisão celular, resultando na duplicação dos cromossomos. Para determinação da ploidia serão empregadas as técnicas de citometria de fluxo e a contagem cromossômica convencional. As microestacas laterais e folhas das plantas resultantes da metodologia de limpeza para couro de sapo foram armazenadas no ultrafreezer, em seguida foi feita a pesagem de amostras dos tratamentos para formação de 106 pools, para posterior detecção por RT-PCR e ELISA para confirmação da eliminação do CFSD. As plantas regeneradas das microestacas apicais serão aclimatizadas e também indexadas. Espera-se, com os resultados deste trabalho estabelecer um procedimento para

eliminação do couro de sapo de plantas de mandioca, bem como desenvolver metodologias para duplicação cromossômica em mandioca, que produzam plantas com características melhoradas de raiz e no teor de amido.

**Palavras-chave:** *Manihot* spp.; CFSD; ápice meristemático; termoterapia

---