

Micropropagação da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz): uma técnica consolidada para a multiplicação *in vitro* de variedades

Raquel Almeida Cardoso da Hora¹; Antônio da Silva Souza²; Karen Cristina Fialho dos Santos³; Helton Fleck da Silveira³; Hermínio Souza Rocha³

¹Estudante de Agronomia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; ²Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura; ³Analista da Embrapa Mandioca e Fruticultura. E-mails: rakeldahora@hotmail.com, antonio.silva-souza@embrapa.br, karen.santos@embrapa.br, helton.fleck@embrapa.br, herminio.rocha@embrapa.br

Diante da baixa e lenta taxa de multiplicação da mandioca, que é de 1:10, ou seja, geralmente, de cada planta se obtêm 10 manivas a cada 10-12 meses, alternativas vêm sendo desenvolvidas, de forma a acelerá-la e ainda superar os problemas fitossanitários. Dentre tais alternativas encontra-se a propagação vegetativa *in vitro*, também denominada de micropropagação, que viabiliza a produção de um elevado número de mudas, com excelentes condições sanitárias, permitindo uma taxa de multiplicação de plantas de 1:5 a cada 6 semanas. Para tanto, a metodologia inicia-se em colher brotos com 2 cm de comprimento, de estacas plantadas em casa de vegetação ou de plantas em campo. No Laboratório de Cultura de Tecidos, o tamanho dos brotos é reduzido para 1,0 cm a 1,5 cm e eles são desinfestados em câmara de fluxo laminar, imergindo-os em álcool 50% durante 1 minuto e depois em água destilada esterilizada, por 15 segundos. Em seguida, os brotos são submergidos em água sanitária por 4 minutos, após o que são imersos em água destilada esterilizada por três vezes consecutivas. Os ápices caulinares são, então, excisados com o auxílio de um microscópio estereoscópio, quando, utilizando um bisturi, vai-se eliminando gradativamente as folhas e estípulas até a visualização do ápice caulinar contendo de 1 a 3 primórdios foliares e com 0,2 mm a 0,4 mm de tamanho. Eles são, então, excisados e incubados em um tubo de ensaio de 14 mm x 100 mm, com 2,5 mL do meio de cultura, e cultivados sob temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$, intensidade luminosa de $30 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ lux e fotoperíodo de 16 horas. Quando apresentam um tamanho entre 1,0 cm e 1,5 cm, após a remoção dos calos formados os brotos são transferidos para tubos de ensaio de 25 mm x 150 mm, contendo 10 mL do meio de cultura de multiplicação/enraizamento. O meio de estabelecimento é composto pelos sais minerais do MS, suplementado com ANA ($0,02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), BAP ($0,04 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), AG_3 ($0,05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), tiamina-HCl ($1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e inositol ($100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Já o meio de multiplicação/enraizamento é formado pelos sais minerais e vitaminas do MS, adicionado de ANA, BAP e AG_3 ($0,01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, cada). Ambos os meios são complementados com sacarose ($20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), solidificados com ágar ($7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) e pH ajustado em 5,7 a 5,8. Ao atingir a tampa do tubo de ensaio, cada planta apresenta o máximo de vigor e deve ser novamente seccionada, repetindo-se um novo ciclo de micropropagação a cada 75-90 dias, a depender do genótipo. A micropropagação da mandioca já vem sendo realizada na Embrapa Mandioca e Fruticultura há mais de 25 anos e durante todo esse tempo tem sido aplicada não apenas na multiplicação de variedades, como também na produção de material para a conservação *in vitro* de germoplasma e o intercâmbio de recursos genéticos com instituições nacionais e internacionais. Mais recentemente, o protocolo está sendo utilizado no Instituto Biofábrica de Cacau, em Ilhéus, na produção de 3 milhões de mudas micropropagadas de mandioca para atender o Projeto Reniva no Estado da Bahia.

Palavras-chave: Cultura de tecidos; ápices caulinares; propagação massiva; conservação de germoplasma