



RESULTADOS PRELIMINARES DO USO DE BIORREATORES DE IMERSÃO TEMPORÁRIA NA PROPAGAÇÃO DE MANDIOCA

HAAS, Bruna Aparecida¹; GOLLE, Diego Pascoal²; KOEFENDER, Jana³; KAIPER,
Cristiane⁴; CAMERA, Juliane Nicolodi⁵;

Palavras-Chave: *Manihot esculenta*. Produção Automatizada. Meio líquido.

INTRODUÇÃO

O cultivo de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz. - Euphorbiaceae) tem estreita ligação com as pequenas propriedades de todo o Brasil onde ocorre, basicamente, por meio de práticas agrícolas tradicionais. Na alimentação humana a mandioca se constitui em uma excelente fonte de energia e está presente com destaque (Adams *et al.*, 2006, Henry & Hershey, 2002; Hillocks *et al.*, 2002). O desenvolvimento de pesquisas é fundamental para alavancar as potencialidades da cultura. Identificar cultivares com características genéticas, sanitárias e fisiológicas adequadas às condições regionais e, ao mesmo tempo, salvaguardar os recursos genéticos obtidos para estudos e manutenção da variabilidade genética constituem-se questões que tem atraído a atenção de cientistas no mundo. Adicionalmente, viabilizar a produção de propágulos com características conhecidas e adaptadas à região contribui como incentivo ao cultivo da mandioca e pode cooperar com o incremento da rentabilidade dos produtores (TIESENHAUSEN, 1987; Fukuda, 1993; Oliveira *et al.*, 2000).

Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar, de forma preliminar, o desenvolvimento protocolos iniciais para a multiplicação massal de cultivares tradicionais de mandioca do Alto Jacuí por meio do uso de biorreatores de imersão temporária.

¹ Acadêmico do Curso de Agronomia, Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ), Bolsista PIBIC/UNICRUZ. E-mail: bruna_haas@hotmail.com.br

²⁻³ - Professores, Doutores, Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ), Polo de Inovação Tecnológica do Alto Jacuí. E-mails: dgolle@unicruz.edu.br; jkoefender@unicruz.edu.br

⁴ Bióloga, Técnica de Laboratório, Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ). E-mail: ckaiper@unicruz.edu.br

⁵ Pós-Doutoranda (DOCFIX CAPES/FAPERGS), Mestrado Profissional em Desenvolvimento Rural, Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ). E-mail: ju_camera@yahoo.com.br



MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais “in vitro” da Universidade de Cruz Alta. As fontes de explantes – objetivando evitar contaminações – foram obtidas a partir do banco de germoplasma *in vitro* de cultivares de mandioca do Polo de Inovação Tecnológica do Alto Jacuí. Foram utilizados Biorreatores Tecnal® com controle automatizado. A sala de cultivo possui temperatura de $25\pm 3^{\circ}\text{C}$, 16h de fotoperíodo emitido por Diodos Emissores de Luz (LEDs) com intensidade luminosa de $30\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O meio de cultura utilizado foi o meio MS (MURASHIGE; SKOOG,1962) acrescido de 60g L^{-1} de sacarose, $0,300\text{mg L}^{-1}$ de mio-inositol e $0,3552 \mu\text{M}$ de BAP (6-Benzilaminopurina). Os explantes foram retirados do meio geleificado em condições assépticas e transferidos para os biorreatores. Cada frasco recebeu 150 ml de meio de cultura posteriormente autoclavados por 20 minutos, a 121°C e 1atm de pressão. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema bifatorial 2×2 , onde os níveis do fator “A” correspondem as duas cultivares mais produtivas (cultivar FV03 e FV09 das 43 cultivares do banco de germoplasma) de mandioca e os níveis do fator “B” aos tempos de imersão e fase estacionária a saber: 1) 15min em imersão e 8h em fase estacionária, 2) 15min em imersão e 4h em fase estacionária. Foram utilizadas cinco repetições por tratamento com 20 explantes em cada. Os dados preliminares aqui apresentados referem-se à ocorrência de contaminação fúngica (%), bacteriana (%) e oxidação fenólica (%) aos 30 dias de cultivo, os quais foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e tiveram as médias comparadas por meio do Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Não houve interação entre os fatores e tampouco para os níveis do fator “B” (interação e fator “B” com $P=0,6437$) no tocante à contaminação fúngica. Evidenciou-se diferenças estatísticas ($P=0,0315$) para a fonte de variação “cultivar” (Tabela 1). A cultivar FV03 apresentou menor contaminação por fungos durante o cultivo em relação à cultivar FV09. Considerando que os explantes foram oriundos de banco de germoplasma asséptico, pode-se inferir que a utilização de meio líquido permitiu o desenvolvimento de fungos que permaneceram endógenos nos explantes, com maior ocorrência na cultivar FV09. Como os biorreatores utilizados são fabricados para uso em grande diversidade de plantas, infere-se que



a ocorrência de fungos teve relação com o fato de, mesmo no período estacionário, ocorrer contato do meio líquido permanentemente com os explantes, o que deverá ser ajustado.

No que se refere à contaminação bacteriana, não houve diferenças significativas na análise de variância para interação entre os níveis dos fatores ($P=0,1765$) e para os níveis dos fatores isolados (ambos $P=0,9975$). Não houve interação para a variável oxidação fenólica ($P=0,6437$) e para os níveis isolados do fator “B” ($P=0,6437$). Porém, as diferentes cultivares apresentaram diferença ($P=0,0315$), sendo que a cultivar FV09 teve menor percentual de oxidação fenólica. Entretanto, considerou-se este dado como não conclusivo já a contaminação na cultivar FV03 dificultou a observação da presença de explantes oxidados.

Tabela 1 – Contaminação Fúngica (CF) e Oxidação Fenólica (OF) expressos em porcentagem, de explantes das cultivares de mandioca tradicional do Alto Jacuí (FV03 e FV09) aos 30 dias de cultivo em Biorreatores de Imersão Temporária. Cruz Alta, RS, Unicruz, 2017.

Cultivar	CF (%)	Cultivar	OF (%)
FV03	20,00 a*	FV03	70,00 b
FV09	70,00 b	FV09	20,00 a
CV (%)	26,12**	CV (%)	26,12

*letras diferentes, na coluna, diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

**coeficiente de variação expresso em porcentagem.

A presença de contaminantes é um fator de extrema importância na cultura de tecidos, pois interferem ou até inviabilizam o processo (DONATO et al., 2005). O uso de meio de cultura líquido (como o realizado em biorreatores) pode alterar o desenvolvimento dos explantes e a presença de contaminantes quando os mesmo permanecem em contato contínuo com o meio (Ziv, 2000).

CONCLUSÃO

A cultivar FV09 apresentou o menor percentual de contaminação fúngica. Os próximos encaminhamentos do trabalho direcionam-se no sentido de criar estruturas que inibam o contato permanente com resquícios de cultura líquido que ficam nos frascos.

REFERÊNCIAS

Adams, C.; Murrieta, R. S. S.; Siqueira, A.D.; Neves, W. A., & Sanches, R. A.2006. O pão da terra: da invisibilidade da mandioca na Amazônia. pp. 295-321.



DONATO, V.M.T.S., ANDRADE, A.G., TAKAKI, G.M.C., MARIANO, R.L.R. & MACIEL, G.A. 2005. Plantas de cana-de-açúcar cultivadas in vitro com antibióticos. *Ciência e Agrotecnologia*, 29: 134-141.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. **In:** Reunião Brasileira da Sociedade internacional da Biometria, 45. ,2000, São Carlos, SP. **Anais...** São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, 2000.p.255-258.

FERNANDEZ-GARCIA, N. et al. ROS as biomarkers of hiperhydricit. **In:** GUPTA, D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. London Local: Sciences Publishers, 2011. Cap.12, p.249-272.

FUKUDA, C. Doenças da mandioca. **In:** EMBRAPA. Centro Nacional de Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA). Instruções práticas para o cultivo da mandioca. Cruz das Almas, 1993. p.53-56. LOPEZ, J.M. Producción comercial de semilla de yuca. *Yuca Boletín Informativo*, Cali, v.19, n.2, p.1-2, 1995.

OLIVEIRA, R.P. de; GOMES, T.S.; VILARINHOS, A.D. Avaliação de um sistema de micropropagação massal de variedades de mandioca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília, v.35, n.12, 2000, p.2329-2334.

Henry, G. & Hershey, C. 2002. Cassava in South America and the Caribbean. pp. 17-40. **In:** Hillocks, R. J.; Tresh, J. M.; Bellotti, A. C. (Eds.). *Cassava: biology, production and utilization*. Wallingford: CAB International.

MONACO, L.C.; SÖNDAHL, M.R.; CARVALHO, A. et al. Applications of tissue culture in the improvement of coffee. **In:** REINERT, J.; BAJAJ, Y.P.S. *Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture*. Berlin: Springer-Verlag, 1977. p. 109-126.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15p.473-497, 1962.

ZIV, M; CHEN, J. VISHNEVETSKY, J. Propagation of plants in Bioreactors: Prospects and Limitations. **In:** ECONOMOU, A.S.; READ, P. E. (Eds) *Proc 1ª IS on Accl. & Estab.Microprop. Plants, Acta Horticulturae*. v.616, p. 85-93, 2003.

ZIV, M (2000) Bioreactor technology for plant micropropagation. *Hortic. Rev.* 24: 1–30