

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MESTRADO**

**MEIOS DE CULTURA E REGULADORES DE
CRESCIMENTO NO CULTIVO *IN VITRO* DO 'INHAME DA
COSTA' (*Dioscorea rotundata* Poir.)**

JÉSSICA SALES SILVA RABÊLO

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
AGOSTO - 2019**

**MEIOS DE CULTURA E REGULADORES DE CRESCIMENTO NO
CULTIVO *IN VITRO* DO 'INHAME DA COSTA' (*Dioscorea
rotundata* Poir.)**

JÉSSICA SALES SILVA RABÊLO

Engenheira Agrônoma

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2016

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Fitotecnia).

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo

Coorientadora: Ma. Karen Cristina Fialho dos Santos

Coorientador: Me. Honorato Pereira da Silva Neto

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

AGOSTO - 2019

FICHA CATALOGRÁFICA

R114m Rabêlo, Jéssica Sales Silva.
Meios de cultura e reguladores de crescimento no cultivo *in vitro* do 'Inhame da Costa' (*Dioscorea rotundata* Poir.) / Jéssica Sales Silva Rabelo. – Cruz das Almas, BA, 2019.
54f.; il.

Orientador: Carlos Alberto da Silva Ledo.
Coorientadora: Karen Cristina Fialho dos Santos.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas.

1.Inhame – Cultivo in vitro. 2.Inhame – Regulador de crescimento. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Silva Neto, Honorato Pereira da. III.Título.

CDD: 635.23

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas – UFRB.
Responsável pela Elaboração – Antonio Marcos Sarmiento das Chagas (Bibliotecário – CRB5 / 1615).
Os dados para catalogação foram enviados pela usuária via formulário eletrônico.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MESTRADO**

**MEIOS DE CULTURA E REGULADORES DE CRESCIMENTO NO
CULTIVO *IN VITRO* DE 'INHAME DA COSTA' (*Dioscorea rotundata*
Poir.)**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
JÉSSICA SALES SILVA RABÊLO**

Realizada em 28 de agosto de 2019

Prof. Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo
Embrapa Mandioca e Fruticultura - CNPMF
Examinador Interno (Orientador)

Profa. Dra. Daniela Garcia Silveira
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano – IFBAIANO
Examinador Externo

Profa. Dra. Daniela de Souza Hansen
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano – IFBAIANO
Examinador Externo

Dedico esta dissertação ao meu pai Wilhe Rabêlo Barros da Cruz, a minha mãe Margareth Sales Silva Rabêlo e a minha irmã Layla Sales Silva Rabêlo por todo amor incondicional, carinho, dedicação e compreensão.

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar sempre presente em minha vida e tornar meus sonhos possíveis.

Agradeço aos meus pais, Wilhe e Margareth, pelo apoio incondicional, por todo amor, carinho e atenção dedicados a mim ao longo dessa jornada e em toda a minha vida. Amo vocês!

À minha irmã, Layla, e todos os meus familiares que sempre me apoiaram e acreditaram em mim. Minha família é meu orgulho!

À minha amiga-irmã e companheira de casa, Laize, pelos conselhos, pelo ombro amigo, pelos puxões de orelha, por todo apoio e por estar sempre presente quando mais precisei. Não sei o que seria de mim sem você em Cruz!

Aos amigos que conquistei ao longo dessa jornada dentro e fora da faculdade e aos que reforcei os laços, em especial, Aninha, Bernardo, Camila, Carla, Clara, Fabiano, Ise, Laryssa, Lucas, Ludmila, Moura, Pedro, San, Tiago (*in memoriam*) e Vanessa, obrigada por todos os momentos que passamos juntos, eles ficaram guardados dentro da minha memória e do meu coração!

Aos meus orientadores na Embrapa, Dr. Carlos Ledo e a Dr. Antônio Souza, pela atenção, paciência, ensinamentos e conselhos. Muito obrigada por me apresentar o mundo da pesquisa científica!

A todos do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em especial a Laecio, Denise, Inês, Honorato, Karen, Tânia e Camila pela colaboração no desenvolvimento dos experimentos, pelos ensinamentos, conselhos e amizade.

À Embrapa Mandioca e Fruticultura, pela oportunidade desde o período de graduação, por disponibilizar toda estrutura física e apoio financeiro para o desenvolvimento dos trabalhos.

À CAPES, pelo auxílio financeiro à bolsa de estudos.

À UFRB, pela minha formação como Engenheira Agrônoma.

A todos que de uma forma ou outra, colaboraram para o encerramento de mais uma etapa importante na minha vida!

Muito obrigada!

SUMÁRIO

Página

RESUMO

ABSTRACT

REFERENCIAL TEÓRICO1

ARTIGO 1

MEIOS DE CULTURA NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DO 'INHAME DA COSTA'
(*Dioscorea rotundata* Poir.)¹17

ARTIGO 2

REGULADORES DE CRESCIMENTO NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DO
'INHAME DA COSTA' (*Dioscorea rotundata* Poir.)¹33

CONSIDERAÇÕES FINAIS44

ANEXO46

MEIOS DE CULTURA E REGULADORES DE CRESCIMENTO NO CULTIVO *IN VITRO* DO 'INHAME DA COSTA' (*Dioscorea rotundata* Poir.)

Autora: Jéssica Sales Silva Rabêlo

Orientador: Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo

RESUMO: Os meios de culturas e os reguladores de crescimento são um dos fatores fundamentais para o desenvolvimento e crescimento das plantas *in vitro*. Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi avaliar diferentes meios de cultura, concentrações e combinações dos reguladores vegetais 6-benzilaminopurina (BAP) e ácido 1-naftalenoacético (ANA) na multiplicação *in vitro* do 'Inhame da Costa'. Foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro com miniestacas de plantas de 'Inhame da Costa' inoculados em frascos com os meios de cultura MS, Galzy e 2GGC, nas consistências sólida e líquida, suplementados com 30 g.L⁻¹ de sacarose e 1 g.L⁻¹ de carvão ativado e pH ajustado em 5,8 antes da autoclavagem. Os meios sólidos foram gelificados com 8 g.L⁻¹ de ágar. No segundo experimento, miniestacas de plantas de 'Inhame da Costa' foram inoculados em tubos de ensaios com meio de cultura 2GGC na consistência líquida, baseado no resultado do primeiro experimento, suplementados com diferentes concentrações de ANA (0,0; 0,1; 0,2; 0,3 e 0,4 mg.L⁻¹) e BAP (0,0; 0,1; 0,2; 0,3 e 0,4 mg.L⁻¹) combinadas entre si, 30 g.L⁻¹ de sacarose, 1 g.L⁻¹ de carvão ativado e pH ajustado em 5,8 antes da autoclavagem. Em ambos os experimentos, as plantas de inhame foram mantidas em sala de crescimento com 27 ± 1 °C de temperatura, densidade de fluxo de fótons de 30 μmol.m⁻².s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas. Após 90 dias de cultivo foram avaliadas a altura de planta (cm), o número de brotos, o número de folhas senescentes, o número de folhas verdes, o número de miniestacas e massas frescas e secas da parte aérea e raízes (mg). As plantas de 'Inhame da Costa' quando cultivadas em meio de cultura 2GGC e na consistência líquida apresentaram melhor desenvolvimento na multiplicação *in vitro*. As plantas de 'Inhame da Costa' apresentaram melhor desenvolvimento *in vitro* quando cultivadas em meio suplementado com 0,1 mg.L⁻¹ de ANA e BAP.

Palavras chave: cultura de tecidos, meios nutritivos, auxinas, citocininas.

CULTURE MEDIA AND GROWTH REGULATORS *IN VITRO* CULTURE OF 'INHAME DA COSTA' (*Dioscorea rotundata* Poir.)

Author: Jéssica Sales Silva Rabêlo
Advisor: Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo

ABSTRACT: Crop media and growth regulators are one of the key factors for *in vitro* plant development and growth. In this sense, the objective of this work was to evaluate different culture media, concentrations and combinations of the 6-benzylaminopurine (BAP) and 1-naphthalenoacetic acid (ANA) plant regulators in the *in vitro* multiplication of 'Inhame da Costa'. Two experiments were carried out, the first with 'Inhame da Costa' plant minicuttings inoculated in flasks with MS, Galzy and 2GGC culture media, in solid and liquid consistencies, supplemented with 30 g.L⁻¹ sucrose and 1 g.L⁻¹ activated carbon and pH adjusted to 5.8 before autoclaving. The solid media were gelled with 8 g.L⁻¹ agar. In the second experiment, 'Inhame da Costa' minicuttings were inoculated into test tubes with 2GGC culture medium in liquid consistency, based on the results of the first experiment, supplemented with different ANA concentrations (0,0; 0,1; 0,2, 0,3 and 0,4 mg.L⁻¹) and BAP (0,0; 0,1; 0,2; 0,3 and 0,4 mg.L⁻¹) combined, 30 g.L⁻¹ sucrose, 1 g.L⁻¹ activated carbon and pH adjusted to 5.8 before autoclaving. In both experiments, the yam plants were kept in a growth room with 27 ± 1 ° C temperature, 30 µmol.m⁻².s⁻¹ photon flux density and 16 hours photoperiod. After 90 days of cultivation were evaluated the plant height (cm), the number of shoots, the number of senescent leaves, the number of green leaves, the number of minicuttings and fresh and dry mass of shoots and roots (mg). 'Inhame da Costa' plants when grown in 2GGC culture medium and in liquid consistency showed better development *in vitro* multiplication. 'Inhame da Costa' plants showed better development *in vitro* when grown in medium supplemented with 0.1 mg.L⁻¹ ANA and BAP.

Key words: tissue culture, nutrient media, auxins, cytokines.

REFERENCIAL TEÓRICO

1. A cultura do Inhame

O inhame é uma planta herbácea, trepadeira e tuberosa, pertencente ao gênero *Dioscorea*, que é o maior e mais importante gênero da família Dioscoreaceae, apresentando aproximadamente 600 espécies e estimando-se que existam algumas não catalogadas (SILVA et al., 2012). A maioria das espécies de inhame cultivadas atualmente são oriundas do Oeste da África, da América Tropical e do Sudeste da Ásia, regiões consideradas como centros de domesticação e diversidade. Entretanto, houve uma ampla dispersão das espécies de inhame entre os continentes, passando a ser cultivada em regiões tropicais, subtropicais e temperadas (SANTOS, 1996; ASIEDU et al., 1997; MONTALDO, 1991).

As plantas de inhame desenvolvem-se adequadamente em clima quente e úmido, em condição de regime pluvial entre 1.000 mm e 1.600 mm anuais, com temperatura ótima diária de 24 °C a 39 °C e umidade relativa do ar de 60% a 70%. Produzem bem em solos profundos, com textura arenosa e média, bem drenados e arejados, férteis e ricos em matéria orgânica, com pH entre 5,5 e 6,0 (SANTOS et al., 2006). A África Ocidental e a África Central são responsáveis por aproximadamente 95% da produção mundial (FAO, 2018).

Em relação à botânica das plantas, as espécies desse gênero são herbáceas, anuais, com flores pequenas na cor creme ou rosada, frutos deiscentes tipo cápsula e com polinização entomófila (MONTEIRO; PERESSIN, 2002). Suas folhas são alternadas ou opostas com grande diversidade em tamanhos, formas e cores; possuem caule volúvel contendo ou não espinhos (MONTALDO, 1991). A base do pecíolo pode ter estrutura com a forma de orelha em *Dioscorea bulbifera* L. e *Dioscorea alata* L., espinhos em *Dioscorea esculenta* (Lour) Burkill ou apenas uma protuberância, como é o caso de *Dioscorea rotundata* Poir. e *Dioscorea cayenensis* Lam. As raízes principais e a túbera brotam do rizoma, que por sua vez surge na fase inicial de desenvolvimento da planta e está localizado na base da haste (VEGA, 2012). A túbera é uma estrutura formada pela junção do rizoma, caule e da raiz e, dependendo da espécie, ocorre a formação de apenas uma ou

várias túberas na forma cilíndrica, ricas em carboidratos, principalmente amido (VEGA, 2012; POOT-MATU; CORTÉS, 2000; MANDAL, 1993).

Segundo Pedralli (2002), as espécies *D. alata* e *D. cayenensis* apresentam tubérculos com cores da casca que variam entre castanho claro e escuro e polpa branca e branco-amarelo, respectivamente. A espécie *D. rotundata* possui túberas subterrâneas de cor marrom externamente e polpa branca. Seu caule é volúvel, cilíndrico e com espinhos, apresentando folhas opostas, ovaladas, de base arredondada e pecioladas. São alógamas e dioicas, com pequenas flores, frutos capsulados e propagadas principalmente por túberas (MONTALDO, 1991) na produção comercial em campo.

2. Importância Socioeconômica

O gênero *Dioscorea* apresentam mais de 60 espécies com valor econômico (COURSEY, 1976). Entretanto, apenas 25 são citadas como alimentícias, 15 como medicinais e 6 como ornamentais. As informações taxonômicas sobre a família Dioscoreaceae são escassas e a grande maioria das espécies são pouco estudadas, podendo existir espécies de relevante valor econômico que são desconhecidas (PEDRALLI, 1998, 2002).

Esse gênero abrange espécies que além de serem usadas na alimentação humana contêm substâncias naturais, como saponáceos e diosgenina, que são utilizadas pela indústria farmacêutica na fabricação de contraceptivos orais e hormônios sexuais, e também pela indústria cosmética (PEIXOTO NETO et al., 2000; MONTALDO, 1991). Os nutricionistas destacam a importância do consumo de inhame para pacientes anêmicos devido ao seu alto teor em ferro. Além disso, a substituição de até dois terços dos alimentos básicos por inhame, promove o aumento nas taxas dos hormônios sexuais, de substâncias lipídicas e de antioxidantes, podendo, assim, reduzir o risco de câncer e doenças cardiovasculares em mulheres na pós-menopausa (WU et al., 2005).

Segundo Carmo; Borel (2002), o inhame foi a principal fonte de carboidratos para os povos da África Ocidental e Central antes da introdução de outras culturas com raízes comestíveis. De acordo com a FAO (2018) o continente africano é

responsável por 95% da produção global da cultura e a Nigéria é o maior produtor mundial de inhame, com mais de 35 milhões de toneladas, seguida por Gana, com mais de 7 milhões de toneladas, sendo a *D. rotundata* e *D. cayenensis* (inhame amarelo) as espécies mais cultivadas.

O Brasil é o segundo maior produtor da cultura na América Latina, perdendo apenas para a Colômbia. Em 2014, apresentou cerca de 23 mil hectares de área cultivada, com uma produção de 247 mil toneladas e rendimento de 10,6 t.ha⁻¹, ocupando, assim, a 14^a posição no ranking mundial dos países com maior produção de inhame (FAO, 2018). A região Nordeste é a maior responsável por essa contribuição, sendo os estados da Paraíba, Pernambuco, Bahia, Alagoas e Piauí os maiores produtores. Na Bahia, os municípios de Maragogipe, Cruz das Almas, São Felipe e São Félix, são os principais produtores de inhame (SILVA et al., 2012).

No Nordeste Brasileiro seu cultivo alcança grande importância socioeconômica, onde as túberas podem contribuir para a solução do problema da demanda restrita de alimentos, bem como na geração de emprego e renda (OLIVEIRA et al., 2007). A cadeia produtiva do inhame envolve outros setores, além dos empregos diretos, como armazenamento, transporte e comercialização, reforçando a importância da cultura para o desenvolvimento regional (SANTOS et al., 2007). As espécies mais importantes economicamente são: *D. alata* L., *D. cayenensis* Lam., *D. rotundata* Poir, *D. bulbifera* L. e *D. trifida* L. (PEDRALLI, 1998; VEASEY et al., 2010). A *D. alata*, nas cultivares Cará, Cará Mandioca, Cará Flórida e São Tomé, e a *D. rotundata*, cultivares Cará, Cará Negro, Cará da Costa, Inhame da Costa e Tabica, são as mais plantadas (MESQUITA, 2002).

Porém, o manejo inadequado da cultura, da água e do solo, a indisponibilidade de material vegetal de qualidade genética e fitossanitária, com consequente utilização de túberas-semente de baixa qualidade, a baixa fertilidade do solo e as irregularidades climáticas são fatores que contribuem para a baixa produção de inhame (SANTOS, 1996; CAZÉ FILHO, 2002; OLIVEIRA et al., 2007). Nesse sentido, o inhame necessita de estudos para alavancar a eficiência produtiva e adquirir maiores informações do mercado consumidor, oferecendo então, um produto de alta qualidade.

3. Propagação do Inhame

O inhame propaga-se quase que exclusivamente por reprodução assexuada, mediante segmentos de caules, bulbilhos axilares, túberas inteiras ou cortadas (KADOTA; NIIMI, 2004). A túbera inteira apresenta uma grande quantidade de gemas, cuja brotação é mais rápida e possibilita uma uniformização da população de plantas em campo, bem como o aumento da produção de túberas comerciais (SILVA, 2002). Além disso, a utilização de túberas inteiras de tamanho reduzido dificulta a entrada de patógenos que causam seu apodrecimento. O emprego de segmentos de túberas também é uma forma viável de propagar o inhame, porém deve-se ter alguns cuidados na seleção de material para plantio e utilizar túberas-sementes com tamanho variando de 150 g a 200 g, já que pode ocorrer a transferência de doenças virais e de patógenos do solo de uma geração para outra (SANTOS, 1996; SILVA et al., 2012).

Segundo Santos (2002), a produção de túberas-sementes para o plantio pode ser realizada mediante processo natural de seleção das mesmas (túberas originárias da colheita e com até 700 g, são selecionadas após 270 dias do plantio), ou por meio de técnica tradicional de capação e por método convencional de superadensamento populacional. A técnica tradicional de capação é a mais utilizada pelos agricultores, onde retira-se precocemente a túbera comercial após 210 dias do plantio. Nesse método, a túbera é retirada por meio de um corte no ponto exato do ligamento entre a protuberância (rizoma) e a túbera comestível, preservando as raízes da planta, que, por sua vez, produzirá novas túberas menores. Após 90 dias da realização da capação, essas novas túberas poderão ser colhidas e utilizadas como sementes para o novo plantio (SANTOS, 1996; SANTOS et al., 2007).

Uma outra técnica para a produção de plantas de inhame se dá por meio da produção de minitúberas em sementeira (SANTOS, 2002). Essa técnica consiste em seccionar a túbera-semente inteira de boa qualidade em três partes: basal, mediana e distal. Em seguida, cada parte será seccionada no sentido vertical em pedaços entre 50 g e 70 g, que podem ser denominados de minitúberas. Essas, por sua vez, devem ser plantadas em sementeiras ou canteiros até atingirem um

crescimento vegetativo de 20 cm a 30 cm (entre 30 a 60 dias) e posteriormente transferidas para o campo (SANTOS et al., 2007). Uma outra via para a produção de mudas de inhame é a do cultivo *in vitro*, por meio da micropropagação.

4. Micropropagação

A propagação por túberas-semente no cultivo do inhame mediante métodos convencionais é uma técnica de resposta lenta, não sendo adequada para atender uma demanda que necessite produzir rapidamente uma grande quantidade de mudas de alta qualidade fitossanitária. Além disso, a brotação desuniforme do inhame tem acarretado perdas consideráveis aos produtores, já que, a ocorrência de patógenos no solo, insetos e as intempéries danificam as gemas de brotação e podem levar a morte das túberas. Sendo assim, a técnica de micropropagação apresenta várias vantagens sobre os métodos convencionais de propagação (PEREA, 2001; TAMIRU et al., 2006; SIMÕES et al., 2016).

A micropropagação é uma técnica que apresenta aplicação prática e potencial para a agricultura, focando, inclusive, na produção de plantas em larga escala (SOUZA et al., 2006), independente da estação do ano, em pequeno espaço físico e de alta qualidade fitossanitária (PENCKE, 2011). Apesar de ser uma técnica de custo mais elevado para a propagação de plantas, apresenta algumas vantagens, como a manutenção do genótipo da planta-mãe, melhor qualidade das mudas, homogeneidade do material vegetal propagado, isenção de viroses e nematoides (MANTELL; HUGO, 1989; CAZÉ FILHO, 2002; POORNIMA; RAVISHANKAR, 2007).

Estudos visando o cultivo *in vitro* de *Dioscorea* spp. no Brasil ainda estão em fase inicial. Entretanto, já foi provado que é possível desenvolver uma metodologia para produção de mudas micropropagadas de inhame que possibilite obter grande quantidade de plantas, de alta qualidade agrônômica, em qualquer época do ano, com o máximo de aproveitamento do propágulo vegetal e em curto espaço de tempo (SANTOS; MACÊDO, 2002; SOUZA et al., 2011; SIMÕES et al., 2016).

Segmentos nodais é o explante mais utilizado na propagação *in vitro* do inhame e tem sido bem-sucedido. Porém, alguns fatores podem afetar o

crescimento das plantas, entre eles o meio de cultura, a fonte e a quantidade de carboidrato, os reguladores de crescimento, a luz e a temperatura (BEHERA et al., 2009; AHANHANZO et al., 2010; MAHESH et al., 2010; SOUZA et al., 2011; SIMÕES et al., 2016), necessitando, portanto, de ajustes de relações mais adequadas para a micropropagação dos genótipos.

5. Meios de Cultura

Os meios nutritivos que são utilizados na cultura de células, tecidos e órgãos de plantas fornecem substâncias essenciais para o crescimento dos seus tecidos, controlando em grande parte o desenvolvimento *in vitro* (CALDAS et al., 1998). A constituição do meio é baseada nas exigências das espécies em relação aos nutrientes minerais, com algumas modificações para atender suas necessidades específicas (SANTIAGO et al., 2001).

Por consequência, cada espécie de planta necessita de um meio de cultura específico para seu desenvolvimento normal, tornando-se necessário o estudo da composição de sais minerais, suplementos orgânicos e balanceamento e tipo de reguladores vegetais, que induzem a diferenciação da parte aérea ou da raiz das plantas (SANTOS et al, 2005).

Durante a micropropagação, a exsudação do fenol é muito comum (THOMAS, 2008) e uma das práticas utilizadas para neutralizar o efeito da oxidação fenólica é a adição de antioxidantes ao meio de cultura, que são inibidores ou adsorventes da enzima polifenoloxidase. O ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido málico e o carvão ativado são os mais empregados (GARCIA; TABAREZ, 2008).

O carvão ativado é o antioxidante mais utilizado na cultura de tecidos devido a sua estrutura molecular, e seu efeito pode ser benéfico sobre a organogênese e embriogênese dos explantes (PAN; STADEN, 1998). Seus efeitos podem ser potencializados com o ambiente escuro, que favorece o enraizamento, a adsorção de substâncias inibitórias produzidas pelo próprio meio ou explante, a adsorção de reguladores de crescimento e de outros compostos orgânicos e a liberação de substâncias naturalmente presentes no carvão que beneficiam o crescimento *in vitro* das culturas (GEORGE; SHERRINGTON, 1984).

O meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) é o mais utilizado para a propagação *in vitro* de várias espécies de *Dioscorea* (ALIZADEH et al., 1998; HUANG et al., 2009). Simões et al. (2016), por exemplo, estudaram a micropropagação do 'Inhame da Costa' em meio MS com diferentes concentrações de BAP (0; 0,05; 0,15; 0,45; 1,35 e 4,05 mg L⁻¹) e MS acrescido de 100 mg L⁻¹ de inositol, 20 mg L⁻¹ de cisteína, 0,20 mg L⁻¹ de ácido naftalenoacético (ANA), 0,08 mg L⁻¹ de ácido giberélico (GA3), com as mesmas concentrações de BAP da anterior, e constataram que o meio com modificações, na ausência ou adição de 0,05 mg L⁻¹ de BAP proporcionou melhor desenvolvimento das plantas com maior número de nós.

Souza et al. (2011), visando otimizar um protocolo de micropropagação para produção de *Dioscorea multiflora* Griseb em escala comercial, utilizaram miniestacas previamente subcultivadas em meio MS semisólido, que foram transferidas para multiplicação em meio MS suplementado com BAP em diferentes concentrações de sacarose. No enraizamento, as brotações foram inoculadas em meio MS suplementado com AIB ou ANA. Eles obtiveram melhores resultados de multiplicação e enraizamento, respectivamente, em meio MS suplementado com 0,1 mg L⁻¹ de BAP (80%) e com 1 mg L⁻¹ de AIB (42,6%), concluindo que o protocolo de micropropagação é efetivo e pode ser usado em escala comercial.

Simões et al. (2014), avaliando o enraizamento *in vitro* de plantas de 'Inhame da Costa' em meio de cultura MS com diferentes concentrações de sais, vitaminas e carvão ativado, observaram que utilizando metade da concentração de sais e vitaminas do meio (½ MS) houve um melhor desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular das plantas, e que o maior número de raízes ocorreu em meio acrescido de carvão ativado.

Doukoure et al. (2000) desenvolveram e estudaram cinco meios de cultura (2GH1, CL82-1, MHW78, 2GGC e M50) para as espécies *Dioscorea alata*, *D. esculenta* e *D. cayenensis-rotundata*. Eles obtiveram uma organogênese em mais de 50% dos genótipos cultivados nos meios de cultura 2GGC e M50, e selecionaram esses meios para o cultivo *in vitro* da coleção em campo de inhame. Apesar dos resultados obtidos serem promissores, continuam os esforços para o aperfeiçoamento dos protocolos de micropropagação para *Dioscorea* spp.

6. Reguladores de Crescimento Vegetal

O sucesso do cultivo *in vitro* de espécie vegetais depende de fatores associados à indução e controle da morfogênese no que se refere à regeneração de brotos e raízes no processo de organogênese, sendo de fundamental importância o controle da composição do meio de cultura (MORAIS et al., 2014). Nesse sentido, a suplementação do meio de cultura é um dos principais fatores que interfere na propagação *in vitro* (SIMÕES et al., 2016) e, para isso, diversas classes de reguladores vegetais têm sido empregadas nas técnicas de cultura de tecidos, principalmente as auxinas e citocininas (MORAIS et al., 2014).

As auxinas têm se mostrado eficientes para a otimização da formação do sistema radicular, sendo seu efeito primordial o de promover o desenvolvimento das raízes adventícias, mediante o crescimento das células recém-formadas nos meristemas (HARTMANN et al., 2002). No cultivo *in vitro*, as auxinas são utilizadas para induzir o desenvolvimento de nós, formação de calos e desenvolvimento de raízes adventícias, sendo o ácido indol-3-acético (AIA), o ácido indol-3-butírico (AIB), o ácido α -naftalenoacético (ANA) e o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4 D) os mais comuns (CARVALHO, 1999).

As citocininas pertencem ao grupo de reguladores com capacidade em induzir divisão celular em tecidos vegetais e de atuarem no processo de morfogênese. Sendo assim, são importantes para formação de órgãos, especialmente aéreos (SIMÕES et al., 2016), pois agem induzindo a quebra da dominância apical e estimulando o desenvolvimento das gemas axilares (SILVA et al., 2017).

Dentre as citocininas comercialmente disponíveis, a 6-benzilaminopurina (BAP) geralmente é a que apresenta melhores resultados (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Seu uso tem revelado eficiência no processo de multiplicação *in vitro*, tanto na formação de estruturas aéreas como na indução de gemas adventícias em várias espécies (LEITZKE et al., 2009).

Estudos realizados com diferentes explantes, meios de cultivo, reguladores de crescimento, condições de incubação e métodos de propagação *in vitro*,

revelaram a possibilidade de se definir protocolos de laboratório capazes de alcançar os objetivos desejados, ou seja, a clonagem em larga escala. Está determinado que o tipo de explante utilizado, o meio de cultura e as diferentes concentrações e a relação auxina/citocinina influenciam diretamente na micropropagação do inhame (MITCHELL et al., 1995).

Entretanto, para Taiz e Zeiger (2004), a suplementação hormonal adequada, mesmo em concentrações corretas, não garantirá o desenvolvimento vegetativo da planta, já que as células do meristema precisam ser competentes para adquirirem novos destinos de desenvolvimento, sendo capazes de responderem de forma esperada quando recebem sinais adequados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHANHANZO, C.; GANDONOU, CH. B.; AGBIDINOUKOUN, A.; DANSI, A.; AGBANGLA, C. Effect of two cytokinins in combination with acetic acid α -naphthalene on yams (*Dioscorea spp.*) genotypes' response to *in vitro* morphogenesis. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 51, p. 8837-8843, 2010.

ALIZADEH, S.; MANTELL, S. H.; VIANA, A. M. *In vitro* culture and microtuber induction in the steroidal yam *Dioscorea composite* Hemsl. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 53, p. 107-112, 1998.

ASIEDU, R.; WANYERA, N. M.; NG, S. Y. C.; NG, N. Q. Yams. In: FUCCILLO, D.; SEARS, L.; STAPELTON, P. (ed.). **Biodiversity in trust: conservation and use of plant genetic resources in CGIAR centers**. Cambridge: Cambridge University Press, 1997. p. 57-66.

BEHERA, K. K.; SAHOO, S.; PRUSTI, A. Regeneration of plantlet of water yam (*Dioscorea oppositifolia* L.) through *in vitro* culture of nodal segments. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**. v. 37, p. 94-102, 2009.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI: Embrapa-CNPq, 1998. v. 1, p. 87-132.

CARMO, C. A. S. do; BOREL, R. M. A. Situação das culturas do taro e do inhame no Estado do Espírito Santo. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DO INHAME E DO TARO, 2., 2002, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: EMBRAPA, 2002. p. 197-212.

CARVALHO, J. M. F. C. de. **Técnicas de micropropagação**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 1999. 39 p. (Embrapa Algodão. Documentos, 64).

CAZÉ FILHO, J. Clonagem do inhame (*Dioscorea* sp.) por métodos biotecnológicos. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DO INHAME E DO TARO, 2., 2002, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Emepa, 2002. p.113-126.

COURSEY, D. G. Yams: *Dioscorea* spp. (Dioscoreaceae). In: SIMMONDS, N. W. (ed.). **Evolution of crop plants**. New York: Longman, 1976. p. 70-74.

DOUKOURE, S.; AHOUSI, N.; ZOUNDJIHEKPON, J.; TIO-TOURÉ, B. Culture *in vitro* chez l'igname (*Dioscorea* sp.): Influence du milieu de culture sur la régénération du micro boutures. **Agronomie Africaine**, v. 12, n. 3, p. 105-113, 2000.

FAO, **FAOSTAT, DATABASE, CROP PRIMARY**. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/S>>, FAOSTAT, DATABASE, CROP PRIMARY. Acesso em: 12 jun. 2018.

GARCIA, M. B.; TABAREZ, Y. S. Efecto de la adición de diferentes concentraciones de carbón activado sobre la multiplicación *in vitro* de ñame. **Biotecnología Vegetal**, v. 8, n. 2, p. 87-90, 2008.

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant propagation by tissue culture**. Eversley: Exegetics, 1984.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. v. 1, p. 183-260.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New York: Englewood Cliffs, 2002. 880 p.

HUANG, X. L.; YANG, B.; HU, C. G.; YAO J. L. *In vitro* induction of inflorescence in *Dioscorea zingiberensis*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 99, p. 209-215, 2009.

KADOTA, M.; NIIMI, Y. Improvement of micropropagation of Japanese yam using liquid and gelled medium culture. **Scientia Horticulturae**, v. 102, p. 461-466, 2004.

LEITZKE, L. N.; DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Meio de cultura, concentração de AIB e tempo de cultivo no enraizamento *in vitro* de amora-preta e framboeseira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 2, p. 582-587, 2009.

MAHESH, R.; MUTHUCHELIAN, K.; MARIDASS, M.; RAJU, G. *In vitro* propagation of wild yam, *Dioscorea wightii* through nodal cultures. **International Journal of Biological Technology**, v. 1, p. 111-113, 2010.

MANDAL, R. C. **Tropical root and tuber crops**. Bikaner: India, Agro Botanical Publishers, 1993. 396 p.

MANTELL, S. H.; HUGO, S. A. Effects of photoperiod, mineral medium strength, inorganic ammonium, sucrose and cytokinin on root, shoot and microtuber development in shoot cultures of *Dioscorea alata* L. and *D. bulbifera* L. Yam. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 16, p. 23-37, 1989.

MESQUITA, A. S. Inhame e taro: cenários dos mercados internacional, brasileiro e baiano. **Bahia Agrícola**, v. 5, n. 2, p. 54-64, 2002.

MITCHELL, S. A.; ASEMOTA, H. N.; AHMAD, M. H. Effects of explant source, culture medium strength and growth regulators of the *in vitro* propagation of three jamaican yams (*D. cayenensis*, *D. trifida* and *D. rotundata*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 67, p. 173-180, 1995.

MONTALDO, A. **Cultivo de raíces y tubérculos tropicales**. 2. ed. San José, Costa Rica: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 1991. 408 p.

MONTEIRO, D. A.; PERESSIN, V. A. Cultura do inhame. In: CEREDA, M. P. (ed). **Agricultura: tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargil, 2002. p. 511-522.

MORAIS, T. P.; ASMAR, S. A.; LUZ, J. M. Q. Reguladores de crescimento vegetal no cultivo *in vitro* de *Mentha x Piperita* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, supl. I, p. 350-355, 2014.

MOURA, L. C.; TITON, M.; FERNANDES, J. S. C.; SANTANA, R. C.; OLIVEIRA, M. L. R. Micropropagação de sucupira-preta por meio de gemas axilares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 12, p. 1691-1698, 2012.

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

OLIVEIRA, A. P.; BARBOSA, L. J. N.; PEREIRA, W. E.; SILVA, J. E. L.; OLIVEIRA, A. N. P. Produção de túberas comerciais de inhame em função de doses de nitrogênio. **Horticultura Brasileira**, v. 25, 73-76, 2007.

PAN, M. J.; STADEN, J. Van. The use of charcoal in *in vitro* culture - A review. **Plant Growth Regulation**, v. 26, p. 155-163, 1998.

PEDRALLI, G. Dioscoreaceae e Araceae: aspectos taxonômicos, etnobotânicos e espécies nativas com potencial para melhoramento genético. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DO INHAME E DO TARO, 2., 2002, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Emepa, 2002. p. 39-53.

PEDRALLI, G. **Revisão taxonômica das espécies de Dioscoreaceae (R.Br.) Lindley da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais e Bahia, Brasil**. 1998. 400 f. Tese (Doutorado em Ciência – Botânica) – Instituto de Biociências: Universidade de São Paulo, São Paulo.

PEIXOTO NETO, P. A. de S.; CAETANO, L. C.; LOPES FILHO, J; CAETANO, L. C.; ALENCAR, L. M. C.; LEMOS, E. E. P. **Inhame: o Nordeste fértil**. Maceió: EDUFAL, 2000. 88 p.

PENCE, V. C. Evaluating costs for the *in vitro* propagation and preservation of endangered plants. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 47, n. 1, p. 176-187, 2011.

PEREA, M. Contribución de la biotecnología al desarrollo sostenible del cultivo del ñame. In: PEREA, M. (ed). **Biología agrícola**. Bogotá: Editora Guadalupe, 2001. p. 289-301.

POORNIMA, G. N.; RAVISHANKAR, R. V. In vitro propagation of wild yams, *Dioscorea oppositifolia* (Linn) and *Dioscorea pentaphylla* (Linn). **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 20, p. 2348-2352. 2007.

POOT-MATU, J. E.; CORTÉS, M. **Raíces y tubérculos**. Villahermosa: Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, 2000. 16 p.

SANTIAGO, J. A. E.; PAIVA, R.; PAIVA, P. D. de O.; SANTANA, J. R. F. de.; GOMES, G. A. C. Meios de cultura. In: PAIVA, R.; PAIVA, P. D. de O. (ed.). **Cultura de tecidos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. p. 22-35.

SANTOS, A. S. A.; MACHADO, I. S.; LEÃO, A. L.; RAMOS, A. A. Concentrações de BAP e TDZ na propagação in vitro de curauá (*Ananas erectifolius* L.B. Smith): a influência das citocininas sintéticas na cultura de tecido. **Revista de Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 35, p. 62-65, 2005.

SANTOS, E. S. dos. **Inhame (*Dioscorea* spp.)**: aspectos básicos da cultura. João Pessoa: Emepa: Sebrae, 1996. 158 p.

SANTOS, E. S. dos. Manejo sustentável da cultura do inhame (*Dioscorea* sp.) no Nordeste do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DO INHAME E TARO, 2, 2002, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Emepa, 2002. p. 181-195.

SANTOS, E. S. dos; CAZÉ FILHO, J.; LACERDA, J. T. de; CARVALHO, R. A.; FONTINÉLLI, I. S. C.; SILVA, J. B. da; BARBOSA, M. M.; CASSIMIRO, C. M. **Inhame**: produção e preservação ambiental: um produto da agricultura familiar. João Pessoa: Emepa, 2006. 6 p.

SANTOS, E. S. dos; CAZÉ FILHO, J.; LACERDA, J. T.; CARVALHO, R. A. Inhame (*Dioscorea* sp.) tecnologia de produção e preservação ambiental. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 1, p. 31-36, 2007.

SANTOS, E. S. dos; MACÊDO, L. de S. Tendências e perspectivas da cultura do inhame (*Dioscorea* sp.) no Nordeste do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE

AS CULTURAS DO INHAME E DO TARO, 2, 2002, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Emepa, 2002. p. 21-31.

SILVA, D. A. Novas opções tecnológicas para o cultivo do inhame (*Dioscorea sp.*) no Nordeste do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DE INHAME E DO TARO, 2., 2002, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Emepa, 2002. p. 80-81.

SILVA, J. P. G. dos S. S.; COSTA, T. P. D.; COSTA, M. K. C.; ARAUJO, M. R. S. de; ARAUJO, K. S.; SILVA, A. C. M. da; OLIVEIRA, P. C. de; SIA, E. de F. Efeito da citocinina 6-benzilaminopurina (BAP) sobre o estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais de *Rosa sp.* **Agroecossistemas**, v. 9, n. 2, p. 370-380, 2017.

SILVA, S. de O. e; CARVALHO, P. C. L. de; MOREIRA, R. F. C.; CARNEIRO, J. L. S. **Orientações técnicas para o cultivo do inhame.** Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2012. 40 p.

SIMÕES, K. da S.; LINO, L. S. M.; SOUZA, A. da S.; SILVA, S. de O. e; LEDO, C. A. da S. Enraizamento de inhame em meios MS e carvão ativado. **Científica**, v. 42, n. 2, p. 164-169, 2014.

SIMÕES, K. da S.; LINO, L. S. M.; SOUZA, A. da S.; SILVA, S. de O. e; LEDO, C. A. da S. Micropropagação de Inhame da Costa sob concentrações de BAP em distintos meios de cultura. **Magistra**, v. 28, n. 3/4, p. 342-351, 2016.

SOUZA, A. V. de; BERTONI, B. W.; FRANÇA, S. de C.; PEREIRA, A. M. S. Micropropagação de *Discorea multiflora* Grised. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 1, p. 92-98, 2011.

SOUZA, F. V. D; JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. da S.; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; COSTA, M. A. P. de C. Micropropagação. In: SOUZA, A. da S.; JUNGHANS,

T. G. (ed.). **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2006. p. 38-52.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TAMIRU, M.; BECKER, H. C.; MAASS, B. L. Diversity, distribution and management of yam landraces (*Dioscorea* spp.) in Southern Ethiopia. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 55, p. 115-131, 2006.

THOMAS, T. D. The role of activated charcoal in plant tissue culture. **Biotechnology Advances**, v. 26, p. 618-631, 2008.

VEASEY, E. A.; SIQUEIRA, M. V. B. M.; GOMES, L. R.; NASCIMENTO, W. F.; FERREIRA, A. B.; SILVA, D. M.; SILVA, E. F.; MING, L. C.; PERONI, N.; SANTOS, A. H. Ocorrência e diversidade de espécies cultivadas do gênero *Dioscorea* em diversos agroecossistemas brasileiros. In: KFFURI, C.W.; AMOROZO, M. C.; MING, L. C. (ed.). **Agrobiodiversidade no Brasil: experiências e caminhos da pesquisa**. Recife: NUPEEA, 2010. p. 45-74

VEGA, C. M. E. G. El ñame (*Dioscorea* spp.). Características, usos y valor medicinal. Aspectos de importancia en el desarrollo de su cultivo. **Cultivos Tropicales**, v. 33, n. 4, p. 5-15, 2012.

WU, W. H.; LIU, L. Y.; CHUNG, C. J.; JOU, H. J.; WANG, T. A. Estrogenic effect of yam ingestion in healthy postmenopausal women. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 24, n. 4, p. 235-243, 2005.

ARTIGO 1

MEIOS DE CULTURA NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DO 'INHAME DA COSTA' (*Dioscorea rotundata* Poir.)¹

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Ciência Agrônômica, na língua portuguesa.

Meios de cultura na multiplicação *in vitro* do 'Inhame da Costa' (*Dioscorea rotundata* Poir.)

Resumo: O inhame desempenha importante papel socioeconômico no Nordeste do Brasil, onde presta grande contribuição ao desenvolvimento rural. O principal problema do seu cultivo consiste no uso de túberas-semente não selecionadas, gerando mudas de baixa qualidade. Então, a micropropagação é uma alternativa para contornar esse problema, pois se trata de uma técnica que possibilita a produção de mudas de alta qualidade genética e fitossanitária. Este trabalho teve por objetivo avaliar diferentes meios de cultura na multiplicação *in vitro* de plantas do 'Inhame da Costa'. Miniestacas contendo pelo menos uma gema lateral foram inoculadas em frascos contendo os meios de cultura MS, Galzy e 2GGC, nas consistências sólida e líquida, suplementados com 30 g.L⁻¹ de sacarose e 1 g.L⁻¹ de carvão ativado e pH ajustado em 5,8 antes da autoclavagem. Os meios sólidos foram gelificados com 8 g.L⁻¹ de ágar e para os meios líquidos, não foi necessário a utilização do uso de pontes. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 2, com 5 repetições para os tratamentos sólidos e 10 para os líquidos, em que cada parcela se constituiu de um frasco com 6 miniestacas para os meios gelificados e 3 para os meios líquidos, totalizando 30 plantas por tratamento. Após a inoculação, as miniestacas foram cultivadas em sala de crescimento com 27 ± 1 °C de temperatura, densidade de fluxo de fótons de 30 µmol.m⁻².s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas. Aos 90 dias de cultivo foram avaliadas a altura de planta (cm), o número de brotos, o número de folhas senescentes, o número de folhas verdes, o número de miniestacas e as massas fresca e seca da parte aérea e de raízes (mg). Os dados obtidos foram submetidos ao teste F da análise de variância. Os explantes foram 100% responsivos e para todas as variáveis analisadas, os meios estudados não diferiram estatisticamente entre si, porém, o meio 2GGC foi o mais eficiente na multiplicação *in vitro*, sendo a consistência líquida a mais indicada para a micropropagação do 'Inhame da Costa'.

Palavras-chave: brotações; micropropagação; meios nutritivos.

**Culture media in multiplication *in vitro* of the of 'Inhame da Costa'
(*Dioscorea rotundata* Poir.)**

Abstract: Yam plays an important socioeconomic role in northeastern Brazil, where it makes a major contribution to rural development. The main problem of its cultivation is the use of unselected seed tubers, generating low quality seedlings. Therefore, micropropagation is an alternative to overcome this problem, as it is a technique that allows the production of high quality genetic and phytosanitary seedlings. This work aimed to evaluate different culture media *in vitro* multiplication of 'Inhame da Costa' plants. Minicuttings containing at least one side bud were inoculated into flasks containing MS, Galzy and 2GGC culture media, in solid and liquid consistency, supplemented with 30 g.L⁻¹ sucrose and 1 g.L⁻¹ activated charcoal and adjusted to pH 5,8 before autoclaving. The solid media were gelled with 8 g.L⁻¹ agar and for the liquid media no use of bridges was required. The experimental design was completely randomized in a 3 x 2 factorial scheme, with 5 replications for solid and 10 for liquid treatments. Each plot consisted of a flask with 6 minicuttings for gelled media and 3 for liquid media, totaling 30 plants per treatment. After inoculation, the minicuttings were grown in a growth room with 27 ± 1 °C temperature, 30 μmol.m⁻².s⁻¹ photon flux density and 16 hours photoperiod. At 90 days of cultivation were evaluated the plant height (cm), the number of shoots, the number of senescent leaves, the number of green leaves, the number of minicuttings and the fresh and dry mass of shoots and roots (mg). The obtained data were submitted to the F test of variance analysis. The explants were 100% responsive and for all variables analyzed, the media studied did not differ statistically, but the 2GGC medium was the most efficient *in vitro* multiplication of 'Inhame da Costa'.

Keywords: sprouts; micropropagation; nutritional means.

INTRODUÇÃO

O inhame é uma planta herbácea, trepadeira e tuberosa, pertencente ao gênero *Dioscorea*, sendo o maior e mais importante gênero da família Dioscoreaceae. Apresenta, aproximadamente, mais de 600 espécies e estima-se que existam algumas não catalogadas (SILVA et al., 2012). Suas plantas produzem túberas ricas em vitamina C, vitaminas do complexo B, carboidratos (principalmente amido), proteínas e gordura (OLIVEIRA et al., 2007).

As espécies mais comerciais produzidas são a *Dioscorea cayennensis*, *D. rotundata*, *D. alata*, *D. trifida* e *D. esculenta*. Dentre elas, a *D. rotundata* Poir., variedade 'Inhame da Costa', é a mais cultivada, já que são facilmente adaptáveis as condições edafoclimáticas e por possuir uma maior aceitação da população para o consumo.

Essa cultura é vastamente cultivada no Brasil, principalmente no Nordeste, onde a cultura do inhame consiste em uma alternativa agrícola potencial para expandir o consumo no mercado interno e atender a demanda do mercado externo, bem como uma fonte de renda para pequenos e médios agricultores familiares (MELO et al., 2012). Entretanto, os problemas técnicos e fitossanitários dificultam o aumento da produção.

Nesse sentido, a biotecnologia vem contribuindo para o desenvolvimento da agricultura mediante a aplicação de diferentes técnicas, destacando-se a micropropagação, que têm como objetivo principal, a produção de material propagativo com alta qualidade genética e fitossanitária. Essa técnica é empregada na pretensão de multiplicar materiais promissores de espécie desejada, prevenindo a disseminação de doenças e pragas entre gerações, obtendo um número considerável de plantas em um curto espaço de tempo e assegurando a estabilidade genética do material (SOUZA et al., 2008).

O meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) é o mais utilizado para a propagação *in vitro* de várias espécies de *Dioscorea* (ALIZADEH et al., 1998; HUANG et al., 2009). Porém, a utilização de outros meios de cultura também vem sendo estudada (AHANHANZO et al., 2010; BORGES et al., 2011), visando a adequação de um protocolo de micropropagação do inhame.

Doukoure et al. (2000) desenvolveram e estudaram cinco meios de cultura (2GH1, CL82-1, MHW78, 2GGC e M50) para as espécies *Dioscorea alata*, *D. esculenta* e *D. cayenensis-rotundata*. Eles obtiveram uma organogênese em mais de 50% dos genótipos cultivados nos meios de cultura 2GGC e M50, e selecionaram esses meios para o cultivo *in vitro* da coleção em campo de inhame.

Diversos trabalhos têm buscado aperfeiçoar a técnica da micropropagação para a cultura do inhame (AHANHANZO et al., 2010; SOUZA et al., 2011; SIMÕES et al., 2016). Entretanto, existem poucos trabalhos comparando diferentes meios de cultura básicos no seu cultivo *in vitro*.

Sendo assim, este trabalho teve por objetivo avaliar diferentes meios de cultura na multiplicação *in vitro* de plantas do 'Inhame da Costa'.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados miniestacas com aproximadamente 1 cm de tamanho com pelo menos uma gema lateral de plantas de 'Inhame da Costa' previamente cultivadas *in vitro* no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Mandioca e Fruticultura, situada em Cruz das Almas, Bahia.

As miniestacas foram inoculadas em câmara de fluxo laminar, em frascos de vidro contendo os meios de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), Galzy (GALZY; COMPAN, 1988) e 2GGC (DOUKOURE et al., 2000), cujas composições encontram-se na Tabela 1, nas consistências sólida (30 mL de meio por frasco) e líquida (15 mL de meio por frasco).

Todos os meios de cultura foram suplementados com 30 g.L⁻¹ de sacarose e 1 g.L⁻¹ de carvão ativado e tiveram o pH ajustado em 5,8 antes da autoclavagem. Além disso, os meios MS e 2GGC foram suplementados com 0,002 e 0,2 g.L⁻¹ de glicina, respectivamente. Os meios com a consistência sólida foram solidificados com 8 g.L⁻¹ de ágar e para os meios líquidos, não foi necessário a utilização do uso de pontes. Após a inoculação, as miniestacas foram cultivadas em sala de crescimento com 27 ± 1 °C de temperatura, densidade de fluxo de fótons de 30 μmol.m⁻².s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 3 x 2 (meios de cultura x consistências), com 5 repetições para os tratamentos sólidos e 10 para os líquidos, em que cada parcela se constituiu de um frasco com 6 miniestacas para os meios gelificados e 3 para os meios líquidos, totalizando 30 plantas por tratamento.

Aos 90 dias de cultivo foram avaliadas as seguintes características: altura de planta (ALT; em cm), número de brotos (NB), número de folhas senescentes (NFS), número de folhas verdes (NFV), número de miniestacas (NM), massa fresca da parte aérea (MFPA; em mg), massa fresca de raízes (MFR; mg), massa seca da parte aérea (MSPA; mg) e massa seca de raízes (MSR; mg).

Tabela 1. Composição dos meios de culturas MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), Galzy (GALZY; COMPAN, 1988) e 2GGC (DOUKOURE et al., 2000) utilizados na propagação *in vitro* do 'Inhame da Costa'.

Componentes (mg.L ⁻¹)	Meios de cultura		
	MS	Galzy	2GGC
Macronutrientes			
NH ₄ NO ₃	1650,0	160,1	1650,0
KNO ₃	1900,0	10,1	1900,0
CaCl ₂ .2H ₂ O	440,0	-	440,0
MgSO ₄ .7H ₂ O	370,0	123,2	370,0
KH ₂ PO ₄	170,0	122,5	170,0
Ca(NO ₃) ₂ .4 H ₂ O	-	495,4	-
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8	-	27,8
Fe ₂ (SO ₄) ₃ .5H ₂ O	-	18,4	-
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37,3	-	37,3
Micronutrientes			
KI	0,830	0,249	0,830
H ₃ BO ₃	6,200	0,025	6,200
MnSO ₄ .4H ₂ O	22,300	-	22,300
MnSO ₄ .H ₂ O	-	0,608	-
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,600	0,057	8,500
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,250	0,024	0,250
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025	0,025	0,025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025	0,043	0,025
Vitaminas + Hexitol			
Tiamina-HCl (B1)	0,1	1	100
Piridoxina-HCl (B6)	0,5	1	100
Ácido nicotínico (B3)	0,5	1	-
Inositol	100,0	10	10

Biotina (B7)	-	0,01	0,001
Pantotenato de Cálcio (B5)	-	1	0,100
Ácido ascórbico (C)	-	-	100
Outros suplementos			
Carvão ativado	1000	1000	1000
Sacarose	30000	15000	30000
Ágar	8000	8000	8000
Glicina	2	-	200

Os dados obtidos foram submetidos ao teste F da análise de variância. As variáveis número de brotos, número de folhas senescentes, número de folhas verdes e número de miniestacas foram transformadas para $\sqrt{x + 1}$, visando o atendimento das pressuposições da análise de variância. As médias dos meios de cultura foram comparadas pelo teste de Tukey e as médias das consistências pelo teste F, ambos a 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa estatístico R (R CORE TEAM, 2019) e utilizando o pacote ExpDes.pt (FERREIRA et al., 2018).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas condições experimentais analisadas, os explantes foram 100% responsivos. Pôde ser observado que para número de brotos (NB) não houve significância, tanto para os fatores isolados como para a interação meio x consistência. As variáveis altura de planta (ALT), número de folhas verdes (NFV), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca de raízes (MFR) e massa seca de raízes (MSR) apresentaram significância para os fatores isolados e sua interação. Entretanto, para número de folhas senescentes (NFS), número de miniestacas (NM) e massa seca da parte aérea (MSPA) houve significância apenas para os fatores isolados (Tabela 2).

Tabela 2. Análise de variância para as variáveis altura de planta (ALT; cm), número de brotos (NB), número de folhas senescentes (NFS), número de folhas verdes (NFV), massa fresca da parte aérea (MFPA; mg), massa fresca de raízes (MFR; mg), massa seca da parte aérea (MSPA; mg) e massa seca de raízes (MSR; mg) em função dos meios de cultura e suas consistências no cultivo *in vitro* do ‘Inhame da Costa’ (*Dioscorea rotundata* Poir).

Fator de Variação	GL	ALT	NB	NFS	NFV	NM	MFPA	MFR	MSPA	MSR
Meio	2	50,69**	0,07 ^{ns}	0,26*	2,53**	1,46**	737109,00**	64087,00**	2348,90*	462,22**
Consistência	1	18,87*	0,00 ^{ns}	1,42**	1,95**	1,22**	536694,00**	132250,00**	10671,10**	871,11**
Meio x Consistência	5	26,35**	0,02 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,48*	0,27 ^{ns}	264468,00**	48463,00*	1337,80 ^{ns}	514,44**
Erro experimental		2,63	0,02	0,07	0,12	0,08	24041,00	9399,00	533,30	67,18
Média		6,30	1,48	0,71	5,82	3,94	441,78	105,33	51,11	8,89
CV (%)		25,73	10,67	24,48	13,84	13,94	35,10	92,04	45,18	92,21

** e * significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F. ^{ns} não significativo a 5% de probabilidade.

Em relação aos coeficientes de variação (CV), o menor valor foi de 10,67% para NB e o maior, 92,04 e 92,21%, para MFR e MSR respectivamente, visto que, são valores interdependentes. Ahanhanzo et al. (2010), trabalhando no cultivo in vitro de *Dioscorea cayenensis-rotundata*, encontraram CV's que variaram de 36,46% a 50,19%, resultado que foi semelhante ao observado por Simões et al. (2014), que observaram CV's entre 29,42% e 47,42% na micropropagação de *Dioscorea rotundata*, já para este experimento a adição da fonte de variação do meio líquido pode ter contribuído para o aumento significativo do cv para 92,21%, condição não observada nos trabalhos citados. Cardoso et al. (2018), realizando estudo sobre a micropropagação de variedades de mandioca, obtiveram CV's entre 6,52% e 54,43%. Para Carvalho (2013), os experimentos com cultura de tecidos normalmente apresentam CV's bastantes elevados, demonstrando que, apesar do controle nas condições ambientais de cultivo, a distribuição dos dados de resposta não costuma seguir as pressuposições da normalidade, muitas vezes sendo necessário a transformação dos dados para realização da análise de variância.

Para todas as variáveis analisadas, os meios MS, Galzy e 2GGC não diferiram estatisticamente entre si na consistência sólida. Entretanto, houve diferença estatística na consistência líquida, onde o meio Galzy apresentou médias inferiores em relação aos demais meios, o que pode ser atribuído a baixa disponibilidade ou concentração de nutrientes deste, refletindo em baixo metabolismo das plantas em comparação aos demais meios. Nessa consistência, os meios MS e 2GGC não diferiram estatisticamente entre si, com exceção da variável NFV, onde o meio 2GGC apresentou a maior média (7,37) e diferiu estatisticamente dos demais (Tabela 3), pois no cultivo em meio líquido os nutrientes ficam mais disponíveis de serem absorvidos proporcionando uma melhor resposta em produção de massa fresca, além do mais, este meio é o que apresenta maiores taxas de vitaminas dissolvidas que contribuiu significativamente para melhores resultados deste tratamento.

Tabela 3. Valores médios de altura de planta (ALT; cm), número de folhas verdes (NFV), massa fresca da parte aérea (MFPA; mg), massa fresca de raízes (MFR)

e massa seca de raízes (MSR; mg) de plantas do 'Inhame da Costa' (*Dioscorea rotundata* Poir) cultivadas *in vitro* em diferentes meios de cultura.

Meio	Consistência	
	Sólida	Líquida
Altura de planta (cm)		
MS	5,25 aB	8,10 aA
Galzy	5,43 aA	3,56 bB
2GGC	5,46 aB	8,60 aA
Número de folhas verdes		
MS	7,15 aA	5,42 bA
Galzy	6,28 aA	2,65 cB
2GGC	8,11 aA	7,37 aA
Massa fresca da parte aérea (mg)		
MS	322,00 aB	636,00 aA
Galzy	244,00 aA	162,00 bA
2GGC	296,00 aB	759,00 aA
Massa fresca de raízes (mg)		
MS	26,00 aB	226,00 aA
Galzy	48,00 aA	25,00 bA
2GGC	12,00 aB	180,00 aA
Massa seca de raízes (mg)		
MS	2,00 aB	19,00 aA
Galzy	6,00 aA	1,00 bA
2GGC	0,00 aB	16,00 aA

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de F, ambos a 5% de significância.

Também na Tabela 3, comparando-se os resultados alcançados entre os meios gelificados e líquidos, observa-se que os meios MS e 2GGC apresentaram as maiores médias para as variáveis altura de planta, massa fresca da parte aérea e massas fresca e seca de raízes na consistência líquida. Porém, para número de folhas verdes não houve diferença entre as consistências desses meios. Em relação ao meio de cultura Galzy, as maiores médias de altura de planta e número de folhas verdes foram obtidas na consistência sólida. Todavia, os resultados obtidos nesse meio para massa fresca da parte aérea e massas fresca e seca de raízes não apresentaram diferença estatística entre os estados sólidos e líquidos.

Pereira; Fortes (2003) avaliando explantes de batata da cultivar Eliza em seis diferentes meios de culturas nas consistências líquidas e sólidas, observaram que a utilização de meios de cultura de consistência líquida proporcionou aumento significativo na taxa de multiplicação e massa da matéria seca das plantas.

Para número de folhas senescentes e massa seca da parte aérea, o meio MS e 2GGC não diferiram estatisticamente entre si e apresentaram as maiores médias, 0,86 e 0,92 e massa seca 58,67 mg e 58,00 mg, respectivamente (Tabela 4), enquanto que o meio de Galzy proporcionou, por menor disponibilidade de nutriente, maior desenvolvimento de raiz para busca de nutrientes (Tabela 3) e, por conseguinte, um menor metabolismo e com isso melhor conservação de folhas vivas em vista do crescimento mínimo. Em relação ao número de brotos, não houve diferença estatística entre os meios estudados, sendo que a maior média aconteceu no meio de cultura 2GGC (1,69). Esse mesmo meio proporcionou a maior média na variável número de miniestacas (5,19), que foi superior estatisticamente às médias propiciadas pelos outros dois meios nutritivos, respectivamente 3,97 e 2,67 miniestacas para o MS e o Galzy.

Tabela 4. Valores médios de número de folha senescentes (NFS), número de brotos (NB), número de miniestacas (NM) e massa seca da parte aérea (MSPA; mg) de plantas de 'Inhame da Costa' (*Dioscorea rotundata* Poir) cultivadas *in vitro* em diferentes meios nutritivos.

Meios	NFS	NB	NM	MSPA
MS	0,86 ab	1,45 a	3,97 b	58,67 a
Galzy	0,37 a	1,31 a	2,67 c	36,67 b
2GGC	0,92 b	1,69 a	5,19 a	58,00 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

DOUKOURE et al. (2000), trabalhando com as espécies *Dioscorea alata*, *D. esculenta* e *D. cayenensis-rotundata*, em diferentes meios de cultura, observaram que as plantas micropropagadas se desenvolveram e cresceram muito bem no meio 2GGC, que produziu as maiores médias para a variável emissão de brotos. Esse meio nutritivo é mais rico em fontes de nutrientes orgânicos que os demais meios analisados, não havendo, portanto, necessidade

das plantas metabolizarem fontes de nutrientes inorgânicos em fontes orgânicas. Então, não há o gasto de energia na síntese, proporcionando maior eficiência na reação e desenvolvimento dos brotos.

Considerando a consistência (Tabela 5), o meio líquido para número de folhas senescentes e massa seca da parte aérea apresentou as maiores médias (0,99 mg e 62 mg, respectivamente), diferindo estatisticamente da condição sólida. Porém, o meio sólido proporcionou uma média mais alta para número de miniestacas (4,85) e, inclusive, foi estatisticamente superior ao líquido. As médias do número de brotos conseguidas foram muito semelhantes, respectivamente 1,47 e 1,49 para os meios sólidos e líquidos, não apresentando, portanto, diferença estatística entre si.

Tabela 5. Valores médios de número de folha senescentes (NFS), número de brotos (NB), número de miniestacas e massa seca da parte aérea (MSPA; em mg) de plantas do ‘Inhame da Costa’ (*Dioscorea rotundata* Poir.) cultivadas in vitro em meios sólido e líquido.

Consistências	NFS	NB	NM	MSPA
Sólida	0,16 a	1,47 a	4,85 a	29,33 b
Líquida	0,99 b	1,49 a	3,49 b	62,00 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Kadota e Niimi (2004), analisando o efeito das consistências líquida e sólida do meio BM (LINSMAIER; SKOOG, 1965) em brotos da cultivar de inhame Toyama Senju (*Dioscorea japonica* Thunb.), obtiveram médias para número de brotos de 1,7 e 2,5 e peso fresco total de 283,4 mg e 51,9 mg, respectivamente, e concluíram que o meio líquido é o melhor para a micropropagação de brotos. Provavelmente, esse resultado aconteceu devido ao aumento da disponibilidade de nutrientes e água proporcionado por esse meio de cultivo (LEVIN et al., 1997; CHEN; ZIV, 2001), que comparado com meios sólidos, não apresentam resistência física para a dispersão dos nutrientes. Além disso, o maior contato das raízes e explantes com o meio líquido favorece a taxa de assimilação de nutrientes pelo material vegetal cultivado (ZIV, 1995).

CONCLUSÃO

Para as condições do experimento, o meio 2GGC na consistência líquida foi o mais indicado para multiplicação *in vitro* do “Inhame da Costa” (*Dioscorea rotundata* Poir.).

REFERÊNCIAS

AHANHANZO, C.; GANDONOU, CH. B.; AGBIDINOUKOUN, A.; DANSI, A.; AGBANGLA, C. Effect of two cytokinins in combination with acetic acid α -naphthalene on yams (*Dioscorea spp.*) genotypes' response to *in vitro* morphogenesis. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 51, p. 8837-8843, 2010.

ALIZADEH, S.; MANTELL, S. H.; VIANA, A. M. *In vitro* culture and microtuber induction in the steroidal yam *Dioscorea composite* Hemsl. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 53, p. 107-112, 1998.

BORGES, M.; DESTRADE, R.; MENESES, S.; GÓMEZ, R.; MALAURIE, B.; HAMON, P. Y.; DEMENORVAL, L. Optimización de un medio de cultivo para plantas micropropagadas de *Dioscorea alata* L. **Revista Colombiana de Biotecnología**, v. 13, n. 2, p. 221-228, 2011.

CARDOSO, M. N.; ARAUJO, A. G. de S.; SILVA, A. V. C. da; OLIVEIRA, L. A. R. de; LEDO, A. da S. Influência de luz e sacarose no crescimento *in vitro* de mandioca. **Nucleus**, v. 15, n. 1, p. 85-92, 2018.

CARVALHO, M. de J. da S. de. **Adequação da condição de crescimento mínimo para a conservação *in vitro* de germoplasma de citros**. 2013. 84 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.

CHEN, J.; ZIV, M. The effect of ancymidol on hyperhydricity, regeneration, starch and antioxidant enzymatic activities in liquid-culture Narcissus. **Plant Cell Reports**, v. 20, p. 22-27, 2001.

DOUKOURE, S.; AHOUSI, N.; ZOUNDJIHEKPON, J.; TIO-TOURÉ, B. Culture *in vitro* chez l'igname (*Dioscorea* sp.): Influence du milieu de culture sur la régénération de micro boutures. **Agronomie Africaine**, v. 12, n. 3, p. 105-113, 2000.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. **Pacote Experimental Designs (Portuguese)**. R package version 1.2.0, 2018. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=ExpDes.pt>.

GALZY, R.; COMPAN, D. Growth and nutrition of grapevine during *in vitro* long-term storage. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 13, p. 229-237, 1988.

HUANG, X. L.; YANG, B.; HU, C. G.; YAO J. L. *In vitro* induction of inflorescence in *Dioscorea zingiberensis*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 99, p. 209-215, 2009.

KADOTA, M.; NIIMI, Y. Improvement of micropropagation of Japanese yam using liquid and gelled medium culture. **Scientia Horticulturae**, v. 102, p. 461-466, 2004.

LEVIN, R.; ALPER, Y.; STAV, R.; WATAD, A. Methods and apparatus for liquid media and semi-automated micropropagation. **Acta Horticulturae**, v. 447, p. 659-663, 1997.

LINSMAIER, E. M., SKOOG, F. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 18, p. 100-127, 1965.

MELO, R. F. de.; ANJOS, J. B. dos.; COELHO, L. C.; SILVA, F. P. da S. Impacto da adubação orgânica no rendimento do inhame da costa (*Dioscorea*

cayennensis) em sistema irrigado. In: FERTBIO, 2012, Maceió. **Anais...** Maceió, 2012. p. 1-4.

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

OLIVEIRA, A. P.; BARBOSA, L. J. N.; PEREIRA, W. E.; SILVA, J. E. L.; OLIVEIRA, A. N. P. Produção de túberas comerciais de inhame em função de doses de nitrogênio. **Horticultura Brasileira**, v. 25, p. 73-76, 2007.

PEREIRA, J. E. S.; FORTES, G. R. de L. Protocolo para produção de material propagativo de batata em meio líquido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1035-1043, 2003.

R CORE TEAM. R. **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2019. Disponível em: <http://www.R-project.org/>.

SANTOS, E. S. dos. Manejo sustentável da cultura do inhame (*Dioscorea sp.*) no Nordeste do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DO INHAME E DO TARO, 2., 2002, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Emepa, 2002. p. 181-195.

SANTOS, E. S. dos; CAZÉ FILHO, J.; LACERDA, J. T.; CARVALHO, R. A. Inhame (*Dioscorea sp.*) tecnologia de produção e preservação ambiental. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 1, p. 31-36, 2007.

SILVA, S. de O. e; CARVALHO, P. C. L. de; MOREIRA, R. F. C.; CARNEIRO, J. L. S. **Orientações técnicas para o cultivo do inhame**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2012. 40 p.

SIMÕES, K. da S.; LINO, L. S. M.; SOUZA, A. da S.; SILVA, S. de O. e; LEDO, C. A. da S. Micropropagação de Inhame da Costa sob concentrações de BAP em distintos meios de cultura. **Magistra**, v. 28, n. 3/4, p. 342-351, 2016.

SIMÕES, K. S.; LINO, L. S. M.; SOUZA, A. da S.; SILVA, S. de O. e; LEDO, C. A. da S. Enraizamento de inhame em meios MS e carvão ativado. **Científica**, v. 42, n. 2, p. 164-169, 2014.

SIQUEIRA, D. L. de; SANTOS, D. dos; SALOMÃO, L. C. C.; SILVA, F. F. e; BARROS, Z. de J. Micropropagação da bananeira 'Maçã', cultivada *in vitro* em diferentes volumes de meio líquido. **Revista Ceres**, v. 60, n. 6, p. 745-751, 2013.

SOUZA, A. da S.; SOUZA, F. V. D.; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; JUNGHANS, T. G.; SILVA NETO, H. P. da. **Micropropagação da mandioca mediante ápices caulinares e segmentos nodais**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2008. 11 p. (Embrapa Mandioca e Fruticultura. Circular Técnica, 88).

SOUZA, A. V. de; BERTONI, B. W.; FRANÇA, S. de C.; PEREIRA, A. M. S. Micropropagação de *Discorea multiflora* Grised. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 1, p. 92-98, 2011.

ZIV, M. The control of bioreactor environment for plant propagation in liquid culture. **Acta Horticulturae**, v. 393, p. 25-38, 1995.

ARTIGO 2

REGULADORES DE CRESCIMENTO NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DO 'INHAME DA COSTA' (*Dioscorea rotundata* Poir.)¹

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Ciência Agrônômica, na língua portuguesa.

Reguladores de crescimento na multiplicação *in vitro* do ‘Inhame da Costa’ (*Dioscorea rotundata* Poir.)

Resumo: A micropropagação apresenta várias vantagens em relação aos métodos convencionais de propagação, já que resulta em plantas com alta qualidade genética e livres de doenças. Então, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de concentrações e combinações dos reguladores de crescimento vegetais BAP e ANA na multiplicação *in vitro* de plantas do ‘Inhame da Costa’. Miniestacas contendo pelo menos uma gema lateral foram inoculadas em câmara de fluxo laminar, em tubos de ensaios contendo aproximadamente 10 mL do meio de cultura 2GGC líquido, meio que propiciou os melhores resultados no artigo anterior, suplementados com diferentes concentrações de ANA (0,0; 0,1; 0,2; 0,3 e 0,4 mg.L⁻¹) e BAP (0,0; 0,1; 0,2; 0,3 e 0,4 mg.L⁻¹) combinadas entre si, 30 g.L⁻¹ de sacarose e 1 g.L⁻¹ de carvão ativado e tiveram o pH ajustado em 5,8 antes da autoclavagem. Após a inoculação, as miniestacas foram cultivadas em sala de crescimento com 27 ± 1 °C de temperatura, densidade de fluxo de fótons de 30 μmol.m⁻².s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 5 x 5 (ANA x BAP), com 12 repetições para cada tratamento. Aos 90 dias de cultivo foram avaliadas a altura de planta (cm), número de brotos, número de folhas senescentes, número de folhas verdes, número de miniestacas, massa fresca e seca da parte aérea (mg) e massa fresca e seca de raízes (mg). Foi realizada a análise de variância por Postos para dois fatores, uma extensão natural do teste de Kruskal-Wallis. O teste não paramétrico Scheirer-Ray-Hare foi aplicado para cada variável resposta, considerando um DIC em esquema fatorial 5 x 5, sendo 5 doses de BAP e 5 doses de ANA com 5 repetições, pois as pressuposições da ANOVA paramétrica não foram atendidas. Quando necessário, foi utilizado o Teste de Dunn no nível de significância de 5% para os níveis dos fatores nas variáveis estudadas. A adição de 0,1 mg.L⁻¹ de ANA e 0,1 mg.L⁻¹ de BAP no meio de cultura promoveu um comportamento semelhantes as demais doses estudadas quanto ao desenvolvimento das plantas, sendo doses ideais para a multiplicação *in vitro* dessa espécie.

Palavras-chave: micropropagação; ANA; BAP.

**Growth regulators in multiplication *in vitro* multiplication of
'Inhame da Costa' (*Dioscorea rotundata* Poir.)**

Abstract: Micropropagation has several advantages over conventional propagation methods as it results in plants with high genetic quality and free from disease. Thus, this work aimed to evaluate the effect of concentrations and combinations of plant growth regulators BAP and ANA on *in vitro* multiplication of 'Inhame da Costa' plants. Minicuttings containing at least one lateral bud were inoculated in a laminar flow chamber in test tubes containing approximately 10 mL of 2GGC liquid culture medium, which provided the best results in the previous article, supplemented with different ANA concentrations (0,0; 0,1; 0,2; 0,3 and 0,4 mg.L⁻¹) and BAP (0,0; 0,1; 0,2; 0,3 and 0,4 mg.L⁻¹), 30 g.L⁻¹ sucrose and 1 g.L⁻¹ activated charcoal were combined and the pH adjusted to 5.8 before autoclaving. After inoculation, the minicuttings were grown in a growth room with 27 ± 1 ° C temperature, 30 μmol.m⁻².s⁻¹ photon flux density and 16 hours photoperiod. The experimental design was completely randomized in a 5 x 5 factorial scheme (ANA x BAP), with 12 replications for each treatment. At 90 days of cultivation were evaluated plant height (cm), number of shoots, number of senescent leaves, number of green leaves, number of minicuttings, fresh and dry mass of shoots (mg) and fresh and dry root mass (mg). The two-way analysis of variance was performed for two factors, a natural extension of the Kruskal-Wallis test. The nonparametric Scheirer-Ray-Hare test was applied for each response variable, considering a 5 × 5 factorial DIC, with 5 doses of BAP and 5 doses of ANA with 5 repetitions, because the parametric ANOVA assumptions were not met. When necessary, the Dunn test was used at the 5% significance level for factor levels in the variables studied. The addition of 0,1 mg.L⁻¹ ANA and 0,1 mg.L⁻¹ BAP in the culture medium promoted a similar behavior to the other studied doses regarding plant development, being ideal doses for *in vitro* multiplication of this species.

Keywords: micropropagation; ANA; BAP.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a produção de inhame está ligada a agricultura familiar, principalmente no Nordeste, região responsável pela maior produção de túberas e onde desempenha um importante papel socioeconômico (SANTOS et al., 2007). A variedade 'Inhame da Costa' (*Dioscorea rotundata* Poir.) é a mais cultivada, devido a sua adaptabilidade as condições edafoclimáticas, alto valor nutritivo e maior aceitação da população para seu consumo.

A produção dessa espécie tem como principais desvantagens a escassez de túberas-sementes saudáveis e livres de pragas e doenças. Além disso, quando plantada em solos de baixa fertilidade a produção pode decair em até 90% do total esperado para o período (BALOGUN; MAROYA, 2014). A obtenção de material para plantio de boa qualidade é o principal objetivo do cultivo de inhame em todo o mundo (AIGHEWI et al., 2015). Tendo em vista tal problemática, a micropropagação surge como uma boa alternativa para o cultivo de inhame no Brasil.

Na micropropagação, as plantas são cultivadas em meios de culturas adequados e em condições controladas de temperatura, fotoperíodo e luminosidade. Viabilizando assim, a produção em larga escala de mudas idênticas a planta mãe e com qualidade fitossanitária, apresentando uma excelente vantagem em relação a propagação vegetativa tradicional (ALMEIDA et al., 2015).

A adição de reguladores de crescimento aos meios nutritivos é uma das exigências para o crescimento de plantas e tem sido comumente utilizada na multiplicação *in vitro*, objetivando a indução organogênica, dentre estes, os mais empregados são as citocininas, como exemplo o BAP (6-benzilaminopurina), que induz a multibrotação e as auxinas, a exemplo do ANA (ácido 1-naftalenoacético), que tem como efeito fisiológico o enraizamento e crescimento vegetal, por meio do balanceamento dos dois reguladores (PIASSI; PIASSI, 2016; SILVA; FERREIRA, 2016).

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes concentrações e combinações dos reguladores de crescimento

vegetais 6-benzilaminopurina (BAP) e ácido 1-naftalenoacético (ANA) na multiplicação *in vitro* de plantas do 'Inhame da Costa' (*Dioscorea rotundata* Poir.).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas miniestacas com aproximadamente 1 cm de comprimento com pelo menos uma gema lateral de plantas do 'Inhame da Costa' previamente cultivadas *in vitro* no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Mandioca e Fruticultura, situada em Cruz das Almas, Bahia.

As miniestacas foram inoculadas, em câmara de fluxo laminar, em tubos de ensaios contendo aproximadamente 10 mL do meio de cultura 2GGC (DOUKOURE et al., 2000), meio que propiciou os melhores resultados no artigo anterior, utilizando pontes confeccionadas com papel germitest, suplementados com diferentes concentrações de ANA (0,0; 0,1; 0,2; 0,3 e 0,4 mg.L⁻¹) e BAP (0,0; 0,1; 0,2; 0,3 e 0,4 mg.L⁻¹) combinadas entre si, 30 g.L⁻¹ de sacarose, 1 g.L⁻¹ de carvão ativado e pH ajustado em 5,8 antes da autoclavagem.

Após a inoculação, as miniestacas foram cultivadas em sala de crescimento com 27 ± 1 °C de temperatura, densidade de fluxo de fótons de 30 μmol.m⁻².s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 5 x 5 (concentrações de ANA x concentrações de BAP), com 12 repetições para cada tratamento.

Aos 90 dias de cultivo foram avaliadas: altura de planta (ALT, cm), número de brotos (NB), número de folhas senescentes (NFS), número de folhas verdes (NFV), número de miniestacas (NM), massa fresca da parte aérea (MFPA, mg), massa fresca de raízes (MFR; mg), massa seca da parte aérea (MSPA; mg) e massa seca de raízes (MSR; mg).

Foi realizada a análise de variância por postos para dois fatores, que é uma extensão natural do teste de Kruskal-Wallis. O teste não paramétrico Scheirer-Ray-Hare (DYTHAM, 2011) foi aplicado para cada variável resposta, considerando um DIC em esquema fatorial 5 × 5, sendo 5 doses de BAP e 5 doses de ANA com 5 repetições, pois as pressuposições da ANOVA paramétrica não foram atendidas. Quando necessário, foi utilizado o Teste de Dunn no nível de significância de 5% para os níveis dos fatores nas variáveis estudadas. As

análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa estatístico R (R CORE TEAM, 2019), utilizando o pacote BSagri (SCHAARSCHMIDT, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação existente entre ANA e BAP foi significativa, assim como o efeito individual dos mesmos. Entretanto, para o número de folhas senescentes, não foram encontradas diferenças significativas entre a interação dos fatores, contrariando a análise de variância (Tabela 1). Dessa forma, não foi possível identificar a melhor combinação dos reguladores vegetais que promova a menor média para a variável NFS.

Tabela 1. Valores médios para número de folhas senescentes no cultivo *in vitro* do ‘Inhame da Costa’ (*Dioscorea rotundata* Poir) em diferentes concentrações de ANA e BAP no meio de cultura 2GGC (DOUKOURE et al., 2000).

ANA	BAP				
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4
0,0	0,13 aA	0,56 aA	0,00 aA	0,40 aA	0,67 aA
0,1	0,29 aA	1,00 aA	0,67 aA	0,75 aA	0,22 aA
0,2	1,30 aA	0,75 aA	1,40 aA	0,50 aA	0,25 aA
0,3	2,13 aA	1,00 aA	0,22 aA	1,78 aA	0,50 aA
0,4	0,80 aA	1,33 aA	0,43 aA	0,33 aA	0,13 aA

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e de letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunn a 5% de significância.

Nesse caso, pode ter havido um sinergismo entre o BAP e ANA, já que, a citocinina controla a expressão de genes envolvidos na senescência de tecidos e órgãos vegetais, inibindo-os ou retardando os efeitos fisiológicos degenerativos, implicando no aumento da longevidade celular (MORGANTE; LOMBARDI, 2004).

Para a variável altura de plantas, a maior média (5,07 cm) foi obtida na dose 0,4 mg.L⁻¹ de ANA, na ausência de BAP, podemos verificar sensivelmente a ação do ANA no alongamento celular proporcionando maiores alturas de plantas. Este resultado, porém, não diferiu estatisticamente dos outros quando

submetidos à ausência de ANA combinada com a dose 0,4 mg.L⁻¹ de BAP (3,03 cm), 0,1 mg.L⁻¹ de ANA combinada com 0,1 mg.L⁻¹ de BAP (4,74 cm), 0,2 mg.L⁻¹ de ANA combinada com 0,3 e 0,4 mg.L⁻¹ de BAP (4,03 e 2,08 cm, respectivamente), bem como com 0,3 mg.L⁻¹ de ANA combinadas com 0,2 e 0,4 mg.L⁻¹ de BAP (4,91 e 3,11 cm, respectivamente), Tabela 2.

Também na Tabela 2, pôde-se observar que, para as variáveis número de folhas verdes e número de brotos a combinação de 0,3 mg.L⁻¹ de ANA e 0,2 mg.L⁻¹ de BAP, obtiveram as maiores médias (8,67 e 3,11, respectivamente), mas não diferiram estatisticamente da maioria das médias alcançadas. Manoharan et al. (2016), no entanto, conseguiram verificar o maior número de brotações para *D. rotundata* quando cultivada em meio MS suplementado com 0,4 mg.L⁻¹ de BAP, todavia, a interação 0,1 de ANA com 0,1 de BAP apresentou um melhor equilíbrio da relação NFV x NB proporcionando miniestacas com melhor conformação e tamanhos.

Geralmente, o número de brotações é inibido com o aumento expressivo da concentração de BAP no meio de cultura, já que, em alguns casos, o aumento da concentração da citocinina induz a um aumento do número de brotações formadas por explante, as quais competem entre si pela absorção de sais minerais e vitaminas do meio de cultura (ROCHA et al., 2007).

Tabela 2. Valores médios para altura de planta (cm), número de folhas verdes, número de brotos, número de miniestacas, número de raízes, massa fresca da parte aérea (mg), massa seca da parte aérea (mg), massa fresca de raízes (mg) e massa seca de raízes (mg) *in vitro* do ‘Inhame da Costa’ (*Dioscorea rotundata* Poir) em diferentes concentrações de ANA e BAP (mg.L⁻¹) no meio de cultura 2GGC (DOUKOURE et al., 2000).

ANA(mg.L ⁻¹)	BAP (mg.L ⁻¹)				
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4
Altura de planta (cm)					
0,0	2,45 aB	2,74 aB	1,62 aB	2,84 aAB	3,03 aA
0,1	2,30 bcB	4,74 aA	2,50 abcB	4,11 abA	2,08 cA
0,2	3,93 aAB	3,49 baA	3,70 aAB	4,03 aA	2,08 aA

0,3	3,38 aAB	3,31 baA	4,91 aA	3,54 aAB	3,11 aA
0,4	5,07 aA	2,90 bB	2,33 cB	1,93 cB	2,11 bcA
Número de folhas verdes					
0,0	1,13 aB	6,11 aA	0,83 bB	5,40 aA	4,17 aA
0,1	3,00 aAB	5,56 aA	3,67 aAB	8,63 aA	5,22 aA
0,2	8,60 aA	4,38 aA	3,20 aB	6,00 aA	4,63 aA
0,3	4,25 aA	4,63 aA	8,67 aA	6,56 aA	5,00 aA
0,4	7,90 aA	5,44 abA	3,86 abAB	2,67 bA	4,13 abA
Número de brotos					
0,0	1,00 aC	2,33 aA	1,17 aA	2,40 aA	1,83 aA
0,1	1,57 aAB	2,44 aA	1,67 aA	2,63 aA	2,22 aA
0,2	3,00 aAB	1,88 aA	1,20 aA	2,00 aA	1,00 bA
0,3	1,75 aAB	1,75 abA	3,11 aA	2,56 aA	1,00 bA
0,4	3,10 aA	2,44 abA	1,43 abA	1,33 abA	1,00 bA
Número de miniestacas					
0,0	1,25 aB	4,00 aA	1,17 aB	3,40 aA	3,00 aA
0,1	2,00 abAB	3,89 aA	2,33 abAB	4,50 aA	1,23 bA
0,2	5,40 aA	2,38 abA	4,50 aA	2,90 abA	1,38 bA
0,3	2,50 abAB	2,50 abA	4,11 aA	3,33 aA	1,13 bA
0,4	5,30 aA	4,00 aA	1,86 bAB	1,67 bA	1,13 bA
Massa fresca da parte aérea (mg)					
0,0	97,46 aA	142,11 aA	76,10 aAB	151,70 aA	131,37 aA
0,1	123,21 abA	222,90 abA	102,90 abAB	223,64 aA	70,63 abA
0,2	268,18 aA	164,71 aA	123,78 aAB	178,83 aA	96,72 aA
0,3	161,94 aA	126,92 aA	376,87 aA	174,18 aA	175,94 aA
0,4	312,81 aA	135,90 aA	76,29 bB	89,73 bA	93,09 bA
Massa seca da parte aérea (mg)					
0,0	10,77 aA	14,73 aA	9,03 aB	18,54 aA	4,75 aA
0,1	14,27 aA	23,23 aA	12,50 abA	23,09 aA	5,11 bA
0,2	38,84 aA	17,16 abA	15,72 abAB	18,06 abA	6,79 bA
0,3	21,65 abA	13,05 abA	36,19 aA	21,89 abA	11,64 bA
0,4	30,27 aA	15,42 abA	11,63 abB	11,62 abA	7,10 bA

Massa fresca de raízes (mg)					
0,0	0,00 aA	8,85 aA	0,00 aA	2,80 aA	0,00 aA
0,1	2,20 aA	1,17 aA	0,00 aA	3,55 aA	0,00 aA
0,2	5,50 aA	0,00 aA	0,50 aA	6,11 aA	0,09 aA
0,3	4,16 aA	3,64 aA	15,14 aA	6,30 aA	0,00 bA
0,4	8,31 aA	2,13 aA	1,36 aA	0,00 aA	0,00 aA
Massa seca de raízes (mg)					
0,0	0,00 aA	0,70 aA	0,00 aA	0,36 aA	0,00 aA
0,1	0,30 aA	0,15 aA	0,00 aA	0,59 aA	0,00 aA
0,2	0,78 aA	0,00 aA	0,04 aA	0,74 aA	0,00 aA
0,3	0,49 bA	0,22 aA	3,02 aA	0,38 aA	0,00 bA
0,4	0,83 aA	0,20 aA	0,20 aA	0,00 aA	0,00 aA

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e de letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunn a 5% de significância.

Em todas as variáveis, muitas combinações apresentaram comportamentos semelhantes e não diferiram estatisticamente. É importante ressaltar que, apesar de não ter apresentado as maiores médias, a adição de 0,1 mg.L⁻¹ de ANA e 0,1 mg.L⁻¹ de BAP no meio de cultura promoveu um comportamento semelhante às demais doses estudadas quanto ao desenvolvimento das plantas. O que representa uma vantagem para a multiplicação da espécie, já que promove uma redução dos custos utilizando concentrações mínimas de formas combinadas dos reguladores vegetais, estabelecendo, assim, um melhor equilíbrio entre as relações dos reguladores citocininas e auxinas.

No geral, esses resultados podem ser atribuídos ao conteúdo endógeno dos reguladores vegetais presentes em plantas pré-cultivadas *in vitro* nas gemas dos segmentos utilizados, que combinados com a adição de baixa concentrações dos fitoreguladores ANA e BAP, foram suficientes para melhorar os indicadores fundamentais de multiplicação da espécie *in vitro*. Neste sentido, Acosta et al. (2008), observaram que os reguladores de crescimento constituem um grupo de substância que, em pequenas quantidades, modificam as diretrizes do desenvolvimento normal das plantas e podem ajudar no incremento da produtividade e melhorar a qualidade da colheita.

CONCLUSÃO

Para estas condições, as doses de 0,1 mg.L⁻¹ de ANA com 0,1 mg.L⁻¹ de BAP no meio de cultura 2GGC (DOUKOURE et al., 2000) são favoráveis para a multiplicação do 'Inhame da Costa' (*Dioscorea rotundata* Poir.), gerando plantas completas e com menor custo.

REFERÊNCIAS

ACOSTA, M.; SÁNCHEZ, J. Y.; BAÑÓN, M. Auxinas. In: AZCÓN-BIETO, J.; TALÓN, M. (ed.). **Fundamentos de fisiologia vegetal**. 2. ed. Madrid: McGraw-Hill, 2008. p. 377-398.

AIGHEWI, B. A.; ASIEDU, R.; MAROYA, N. Y.; BALOGUN, M. Improved propagation methods to raise the productivity of yam (*Dioscorea rotundata* Poir.). **Food Security**, v. 7, n. 4, p. 823-834, 2015.

ALMEIDA, N. M. de; PACHECO JUNIOR, R. G.; CÉZAR, J. de O.; GONÇALVES, H. A.; SOUZA, A. da S. Produção de mudas micropropagadas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em larga escala: uma inovação tecnológica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 16.; CONGRESSO LATINO-AMERICANO E CARIBENHO DE MANDIOCA, 2015, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: SBM, 2015.

BALOGUN, M. O.; MAROYA, N. Status and prospects for improving yam seed systems using temporary immersion bioreactors. **African Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 15, p. 1614-1622, 2014.

DOUKOURE, S.; AHOUSI, N.; ZOUNDJIHEKPON, J.; TIO-TOURÉ, B. Culture *in vitro* chez l'igname (*Dioscorea* sp.): Influence du milieu de culture sur la régénération du micro boutures. **Agronomie Africaine**, v. 12, n. 3, p. 105-113, 2000.

DYTHAM, C. **Choosing and using statistics: a biologist's guide**. 3. ed. USA: Wiley-Brackwell, 2011. 320 p.

MANOHARAN, R.; TRIPATHI, J. N.; TRIPATHI, L. Plant regeneration from axillary bud derived callus in white yam (*Dioscorea rotundata*). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 126, p. 481-497, 2016.

MORGANTE, C. V.; LOMBARDI, S. P. **Hormônios vegetais e biotecnologia**. Piracicaba: Esalq, 2004. 13 p.

PIASSI, M.; PIASSI, M. Otimização de protocolo para indução da calogênese *in vitro* em folhas cotiledonares de alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista Intelletto**, v. 2, p. 135-142, 2016.

R CORE TEAM. R. **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2019. Disponível em: <http://www.R-project.org/>.

ROCHA, P. S. G.; SCHUCH, M. W.; BIANCHI, V. J.; FACHINELLO, J. C. Qualidade da luz na micropropagação do porta-enxerto de *Prunus* cv. Mr. S. 2/5. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 3, p. 32-40, 2007.

SANTOS, E. S. dos; CAZÉ FILHO, J.; LACERDA, J. T.; CARVALHO, R. A. Inhame (*Dioscorea* sp.) tecnologia de produção e preservação ambiental. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 1, p. 31-36, 2007.

SCHAARSCHMIDT, F. BSagri: Stastical methods for safety assessment in agricultural field trials. R package version 0.1-8, 2013. Disponível em: <http://CRAN.R-project.org/package=BSagri>.

SILVA, M. M. A.; FERREIRA, L. T. **Cultivo *in vitro* de plantas e suas aplicações em cactaceae**. Campina Grande: INSA, 2016. 36 p.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No Brasil, a cultura do inhame possui um importante papel como fonte energética na alimentação humana, além de ser gerador de emprego e renda, principalmente na região Nordeste. Contudo, apesar de sua importância, seu cultivo apresenta limitações devido ao manejo inadequado da cultura e a utilização de túberas-sementes de baixa qualidade fitossanitária. Então, o desenvolvimento de tecnologias contribuirá para a melhoria da produtividade e qualidade do inhame, ofertando um excelente produto e que atenda as exigências do mercado consumidor, podendo até incrementar as exportações.

A utilização da biotecnologia, como exemplo as técnicas de cultivo *in vitro* de tecidos vegetais, permitem o isolamento de tecidos ou órgãos vegetais e seu cultivo em meio nutritivo, em condições assépticas, ambiente com temperatura e luz controladas, produzindo material propagativo sadio e prevenindo a disseminação de pragas e doenças de uma geração para outra, além de permitir o rápido acesso dos agricultores às variedades desejadas.

O presente trabalho, buscou avaliar diferentes meios de cultura, concentrações e combinações dos reguladores vegetais 6-benzilaminopurina (BAP) e ácido 1-naftalenoacético (ANA) na multiplicação *in vitro* do 'Inhame da Costa'.

O primeiro artigo abordou os efeitos de diferentes meios de cultura (MS, 2GGC e Galzy) e consistências (sólida e líquida) na multiplicação *in vitro* do inhame. Os resultados mostraram que as plantas cultivadas no meio 2GGC na consistência líquida foi mais eficiente para o desenvolvimento das mesmas.

O segundo artigo teve como objetivo comparar o efeito de diferentes doses de ANA e BAP combinadas entre si. Nesse experimento, em todas as variáveis estudadas, houve muitas combinações que não diferiram estatisticamente entre si, porém a adição de 0,1 mg.L⁻¹ de ANA com 0,1 mg.L⁻¹ de BAP no meio de cultura 2GGC, apresentou comportamento semelhante as demais doses no desenvolvimento dos explantes, demonstrando uma vantagem no quesito redução de custos, já que é utilizado concentrações mínimas dos reguladores.

Desse modo, os resultados deste estudo contribuíram para modificar o protocolo de multiplicação do gênero *Dioscorea* no Laboratório de Cultura de

Tecido da Embrapa Mandioca e Fruticultura, onde passou-se a utilizar o meio 2GGC como básico. Além disso, novos experimentos estão sendo desenvolvidos com esse meio nutritivo para aprimorar e adequar as condições de cultivo, objetivando sempre o melhor desenvolvimento da espécie *in vitro*.

ANEXO

Anexo A. Análise de variância para as variáveis altura de planta (ALT; cm), número de brotos (NB), número de folhas senescentes (NFS), número de folhas verdes (NFV), massa fresca da parte aérea (MFPA; mg), massa fresca de raízes (MFR; mg), massa seca da parte aérea (MSPA; mg) e massa seca de raízes (MSR; mg) em função de ANA e BAP no cultivo *in vitro* do 'Inhame da Costa' (*Dioscorea rotundata* Poir).

Fator de Variação	GL	ALT	NB	NFS	NFV	NM	MFPA	MFR	MSPA	MSR
ANA	4	65884,00**	4795,00 ^{ns}	20025,00 ^{ns}	36047,00**	2876,00 ^{ns}	40374,00**	14583,00 ^{ns}	31668,00*	12564,00 ^{ns}
BAP	4	44097,00*	86918,00**	33742,00**	6681,00 ^{ns}	106728,00**	40770,00**	29296,00**	134570,00**	30864,00**
ANA x BAP	16	173988,00**	157074,00**	072110,00*	152233,00**	194926,00**	163945,00**	82946,00**	141906,00**	83964,00**
Erro experimental		314300,00	279344,00	344829,00	314300,00	265933,00	265933,00	82946,00	290888,00	217597,00

** e * significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F. ^{ns} não significativo a 5% de probabilidade.