

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**ANA CAROLINA DE OLIVEIRA PINTO**

**CULTIVO *IN VITRO* DE MERISTEMAS DE BATATA-DOCE**

**PATO BRANCO**

**2021**

**ANA CAROLINA DE OLIVEIRA PINTO**

**CULTIVO *IN VITRO* DE MERISTEMAS DE BATATA-DOCE**

In vitro cultivation of sweet potato meristem

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Taciane Finatto.

Coorientador: Thiago de Oliveira Vargas.

**PATO BRACO**

**2021**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**ANA CAROLINA DE OLIVEIRA PINTO**

**CULTIVO *IN VITRO* DE MERISTEMAS DE BATATA-DOCE**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 25/novembro/2021

---

Taciane Finatto  
Doutorado em Fitomelhoramento  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná *Campus* Pato Branco

---

Thiago de Oliveira Vargas  
Doutorado em Fitotecnia  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná *Campus* Pato Branco

---

Débora Regiane Gobatto  
Mestrado em Produção Vegetal  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná *Campus* Pato Branco

**PATO BRANCO**

**2021**

A Deus, a meus avôs Dorival, Ana e Retilia, meus pais Kátia e José, meu irmão Luiz Guilherme e ao amor da minha vida, Jólíó Neto.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que me deu o folego da vida, que me sustenta e me guia a cada passo.

Aos meus pais, José e Kátia, e meu irmão, Luiz Guilherme, que sempre estiveram presentes mesmo a vários quilômetros de distância com todo ensinamento, companheirismo, apoio e amor. Sem vocês nada disso seria possível.

A pessoa que decidi dividir a minha vida. Jólío Neto, obrigada por me aguentar em todas as horas, principalmente as de desespero, estresse e choro e também por ser meu porto seguro.

Aos meus avôs, Dorival e Ana, que nunca mediram esforços para me dar todo apoio financeiro que precisei durante toda essa etapa.

A minha tia Luciana, que sempre mostrou sua paixão por essa profissão. Obrigada pelo apoio de sempre e por me incentivar a seguir seus passos.

As amigas/ irmãs que a faculdade me deu. Thaís, sem você essa monografia não tinha saído. Obrigada por sempre me apoiar, por ter sido minha professora a maior parte do tempo dentro da faculdade e, principalmente por me aguentar emburrada todas as manhãs. Thaina, obrigada por me trazer a leveza e mostrar que pra ser feliz não precisa de muito. Vocês duas são meu guarda-chuva em dias de tempestade. Obrigada por me apoiarem, pelo carinho e por estarem comigo em toda essa jornada.

A esta instituição, como também a todos os professores que me fizeram chegar até aqui, em especial a minha orientadora Taciane, que me apoiou e deu todo suporte necessário para concluir com êxito esta etapa da minha vida. Como também ao meu orientador de estágio Luiz Tarcísio, que me deu ensinamentos preciosos, não só técnicos, como também da vida.

E por último, queria agradecer as minhas estrelinhas (*in memorian*), meu avô Célio, que não tive o prazer de conviver muito tempo, mas sei que sempre torceu por mim. A minha irmã de coração, Karime, você me mostrou toda simplicidade que a vida possa ter. Ao meu tio Carlos, obrigada por sempre se orgulhar de mim. A dona Ana e a dona Diva, que me adotaram e me amaram como uma neta. Vocês deixaram legados que ajudaram a ser quem sou hoje.

## RESUMO

A procura por um material vegetativo livre de vírus, ou seja, com alta qualidade fisiológica e fitossanitária, vem crescendo bastante. Uma solução a isso é o uso de técnicas de cultura de tecidos, ou cultivo *in vitro* de tecidos vegetais realizadas na área de biotecnologia vegetal. Essa técnica é de grande valia, pois torna possível a produção de plantas matrizes de forma asséptica em ambientes controlados, sem que haja qualquer tipo de estresse que prejudique o desenvolvimento da planta. Sendo assim, o uso de cultivo *in vitro* pode ajudar a melhorar o ciclo de reprodução e propagação da batata-doce. O objetivo deste estudo foi testar meios de cultura para a obtenção de mudas de batata-doce livres de vírus. As raízes tuberosas das plantas matrizes foram plantadas em vasos com solo e substrato. Após a formação de brotos das plantas matrizes, foram retiradas as ramas das mesmas e levado ao laboratório para a coleta dos ápices caulinares. Foi realizado a etapa de desinfestação desses ápices dentro da câmara de fluxo laminar e a partir desses retirou-se os meristemas, esses apresentam tamanhos de 1 a 2 mm, que com o auxílio do microscópio estereoscópico realizou-se a introduzido *in vitro* em dois diferentes meios de culturas, sendo um o meio MS sem regulador de crescimento e o outro o meio MS com 10 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>. O experimento foi composto por três genótipos de batata-doce (BRS Amélia, Beauregard e BRS Rubissol). Após a introdução, nos dias 7, 14, 21 e 28 realizou-se a avaliação do número e altura de brotos, o percentual de contaminação dos explantes, e o desenvolvimento dos genótipos nos dois meios de cultura. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e quando observada diferença significativa entre as variáveis analisadas, com nível de 5% de significância, foi realizada análise de comparação de médias pelo teste de Tukey, visando identificar o meio de cultura mais eficiente para cada genótipo avaliado. O meio de cultura que apresentou maior contaminação foi o meio MS sem suplementação. Foram encontradas diferenças estatísticas para número de brotos e comprimento dos brotos nos cultivares BRS Amélia e BRS Rubissol, enquanto o cultivar Beauregard não mostrou resposta estatisticamente significativa a mudança de meio. Desta forma, para a cultivar BRS Amélia o meio MS suplementado com GA<sub>3</sub> aumentou o número de brotos em um intervalo de tempo menor, porém não teve efeito significativo para a variável altura de brotos. Para a cultivar BRS Rubissol o meio MS com GA<sub>3</sub> apresentou maior número e altura e brotos após 21 dias do experimento.

**Palavras-chave:** batata-doce; cultura de tecidos; mudas – qualidade; ácido giberélico.

## ABSTRACT

The search for a virus-free vegetative material, with high physiological and phytosanitary quality, has been growing year after year. A solution to this is the use of tissue culture techniques, or in vitro cultivation of plant tissues carried out in the field of plant biotechnology area. This technique has great value, as it makes possible the production of mother plants in an aseptic manner in controlled environments, without any type of stress that could harm the plant's development. Therefore, the use of in vitro cultivation can help to improve the sweetpotato reproduction and propagation cycle. The aim of this study is to regenerate different Ipomoea potato genotypes from apical meristematic explants in two culture media supplemented with plant growth regulators. The mother plant tubers were planted in pots with soil and substrate. After the formation of sprout from the parent plants, the explants were removed from them, and these were collected from shoot tips from the shoot of the plants. The explant used was the meristem with sizes from 1 to 2 mm, which was introduced in vitro in two different culture media, one being the MS medium (Murashige and Skoog, 1962) without growth regulator and the other the MS medium with  $10 \text{ mg L}^{-1}$  of  $\text{GA}_3$ , both supplemented with  $30 \text{ g L}^{-1}$  of sucrose and  $8 \text{ g L}^{-1}$  of agar as gelling agent, with a pH of 5.7. The experiment consisted of three sweet potato genotypes (BRS Amélia, Beauregard and BRS Rubissol). After introduction, the number and height of shoots, the percentage of contamination and explant regeneration, and the development of genotypes in both culture media were evaluated weekly. The data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and when a significant difference was observed between the analyzed variables, with a 5% level of significance, a mean cluster analysis was performed using the Tukey test, in order to identify the most efficient culture medium for each genotype evaluated. The culture medium that showed more contamination was the MS medium. Statistical differences were found for number of shoots and shoot length in cultivars BRS Amélia and BRS Rubissol, while cultivar Beauregard did not show a statistically significant response to medium change. Thus, for cultivar BRS Amélia, the MS medium supplemented with  $\text{GA}_3$  increased the number of shoots in a shorter period of time, but had no significant effect for the variable shoot height. For the BRS Rubissol cultivar, the MS medium with  $\text{GA}_3$  showed the highest number and height and shoots after 21 days of the experiment.

**Keywords:** sweet potatoes; culture of tissues; seedlings – quality; gibberellic acid.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - Morfologia da <i>Ipomoea batatas</i> .....	17
<b>Figura 2</b> - Ilustração do cultivo convencional da <i>Ipomoea batatas</i> .....	20
<b>Figura 3</b> - Esquematização da cultura <i>in vitro</i> de plantas.....	22
<b>Figura 4</b> - Fornecimento de explantes e micropropagação de plântulas através da sua qualidade.....	28
<b>Figura 5</b> - Vasos com as cultivares plantadas na casa de vegetação da UTFPR -PB, onde a Figura A representa a cultivar BRS Amélia e a Figura B representa a cultivar Beauregard.....	32
<b>Figura 6</b> - Ápices caulinares retiradas dos ramos de batata-doce.....	33



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Composição nutricional da batata-doce.....	18
<b>Tabela 2</b> - Composição básica dos principais meios de cultura.....	25
<b>Tabela 3</b> - Reguladores de crescimento utilizados e seus efeitos na cultura de <i>Ipomoea batatas</i> .....	26
<b>Tabela 4</b> - Descrição das cultivares utilizadas .....	32
<b>Tabela 5</b> - Análise de contaminação aos 28 dias das cultivares de batata-doce em meio de cultura MS padrão e meio de cultura MS enriquecido com 10mg L <sup>-1</sup> de GA <sub>3</sub> . UTFPR, Pato Branco - PR.....	35
<b>Tabela 6</b> - Análise de variância para o caractere de percentual regeneração das cultivares BRS Amélia, Beauregard e BRS Rubissol da cultura de batata-doce avaliados aos 7, 14, 21 e 28 dias. UTFPR, Pato Branco – PR.....	35
<b>Tabela 7</b> - Médias do número e altura de brotos da cultivar BRS Amélia submetida á dois meios de culturas e avaliados em 7, 14, 21 e 28 dias. UTFPR, Pato Branco – PR .....	36
<b>Tabela 8</b> - Médias do número e altura de brotos da cultivar Beauregard submetida á dois meios de culturas e avaliados em 7, 14, 21 e 28 dias. UTFPR, Pato Branco – PR.....	37
<b>Tabela 9</b> - Médias do número e altura de brotos da cultivar BRS Rubissol submetida á dois meios de culturas e avaliados em 7, 14, 21 e 28 dias. UTFPR, Pato Branco – PR .....	37

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1</b>	<b>Geral .....</b>	<b>15</b>
<b>2.2</b>	<b>Específicos .....</b>	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>16</b>
<b>3.1</b>	<b>A Cultura da batata-doce .....</b>	<b>16</b>
<b>3.2</b>	<b>Cultivo <i>in vitro</i> .....</b>	<b>21</b>
3.2.1	Aplicações e importância do cultivo <i>in vitro</i> .....	22
3.2.2	Meios de cultura .....	23
3.2.3	Metodologia para cultivo <i>in vitro</i> da batata-doce .....	27
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>32</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>35</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>39</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>40</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Pertencente à família Convolvulaceae, a batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), teve sua origem nas Américas Central e Sul, sendo primeiramente disseminada na Europa através dos portugueses e espanhóis e, posteriormente nos demais continentes, sendo cultivada em todas as zonas tropicais e temperadas (CASTRO, 2010). Essa espécie possui uma variedade muito alta, para Moulin *et al.* (2014), isso está relacionado ao alto nível de ploidia ( $2n = 6x = 90$ ).

A batata-doce é uma hortaliça que se destaca pela facilidade do seu cultivo e rusticidade e por possuir uma ampla adaptação a tipos diferentes de solos e climas, como também por deter alta tolerância à seca, além de um baixo custo de produção (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2012). A produção brasileira representa cerca de 30% do total produzido mundialmente, tendo a maior área plantada no nordeste do país. Já a região sul é a que mais gera valor monetário com a cultura, representando 50% do montante nacional (DIAS; RUSSO, 2016).

Vizzoto *et al.* (2018), destacam que há estudos que descrevem a batata-doce como uma grande fonte de vitamina A e vitaminas do complexo B, além de minerais como cálcio (Ca), ferro (Fe), enxofre (S), magnésio (Mg) e, principalmente, potássio (K). A espécie ainda possui um alto valor nutritivo, por conter carboidratos, e tem uma ampla versatilidade sensorial, por possuir diferentes cores de polpa, sabor e textura.

Em relação aos métodos de propagação da batata-doce, Miranda *et al.* (1995), citam que podem ser realizados por meio de mudas, enraizamento de folhas destacadas e por cultivo de meristemas apicais ou outros tecidos vegetais. Brune (2005) complementa que, os métodos de propagações mais conhecidos são por meio de ramas-sementes e por raízes tuberosas. Ainda, podem-se usar técnicas mais apropriadas como a multiplicação por cultivo *in vitro*, por enraizamento de folhas ou pelo método de multiplicação rápida, como o cultivo de segmentos de caule contendo apenas um nó.

A metodologia de cultivo *in vitro* de células, tecidos e órgãos vegetais apresenta condições nutricionais e ambientais controladas, dependendo do seu objetivo específico e, assim, apresentam diversas aplicações, como multiplicação de plantas em larga escala, eliminação de vírus, melhoramento genético, conservação de germoplasmas e produção de metabólitos secundários (CASTRO, 2015). Assim,

o uso de cultivo *in vitro* poderia ajudar a melhorar o ciclo de reprodução e propagação da batata-doce.

A batata-doce é bastante utilizada por produtores familiares como meio de subsistência e comércio (CASTRO, 2010). Essa planta apresenta grande adaptabilidade, não tendo grandes exigências em fertilidade do solo e sendo bastante resistente a pragas. Porém, como esta planta se propaga vegetativamente, a mesma apresenta grande incidência de doenças, principalmente, as causadas por vírus (SCHUMACHER *et al.*, 2012).

Dessa maneira, a procura por um material vegetativo livre de vírus, ou seja, com alta qualidade fisiológica e fitossanitária, vem crescendo bastante. Uma solução para isso é o uso de técnicas de cultura de tecidos, ou cultivo *in vitro* de tecidos vegetais realizadas na área de biotecnologia vegetal. Essa técnica é de grande valia, pois ela torna possível a produção de plantas matrizes de forma asséptica em ambientes controlados, sem que haja qualquer tipo de estresse que atrapalhe o desenvolvimento da planta (ROGALSKI *et al.*, 2003).

Nesse sentido, o presente estudo auxiliará nas respostas de genótipos da espécie *Ipomoea batatas* sob diferentes condições de cultivo *in vitro*, ajudando assim, a melhorar as condições fitossanitárias e o desenvolvimento das mesmas.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Testar meios de cultura para a obtenção de mudas de batata-doce livres de vírus.

### **2.2 Específicos**

Avaliar o desenvolvimento *in vitro* de meristemas de diferentes genótipos de batata-doce.

Testar diferentes suplementações de meios de cultura, na presença e ausência de giberelina, evidenciando as cultivares que geram um maior número de brotos e as cultivares que apresentam maior crescimento dos brotos.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 A Cultura da batata-doce

A batata-doce, *Ipomoea batatas* (L.) Lam., pertence à família Convolvulaceae, tendo origem nas Américas Central e Sul. Esta espécie vem despertando grande interesse dos pesquisadores por conta da diversidade de material existente no Brasil, por sua rusticidade e alta produtividade, além da facilidade de cultivo e baixo custo de implantação (MOTA *et al.* 2011).

É uma cultura utilizada para subsistência no Brasil, onde seu cultivo é feito em todas as regiões, destacando-se o Nordeste, com uma produção de 317,3 mil toneladas, o Sul, com 252,9 mil toneladas, e o Sudeste com 214 mil toneladas. (FLORES *et al.*, 2015; FERNANDES *et al.* 2021). Em 2018 a produção brasileira teve um aumento de 36% em comparação ao senso de 2009. (IBGE, 2020).

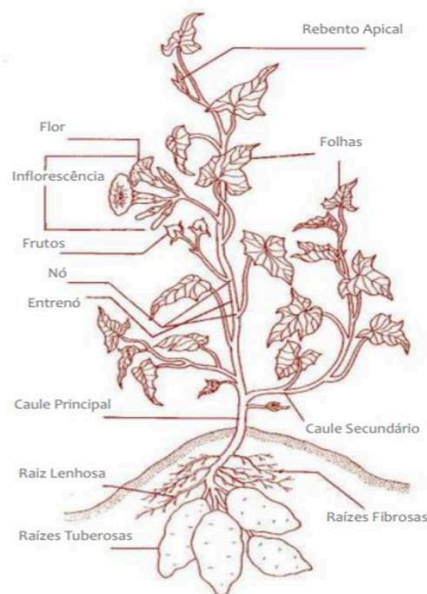
A espécie *Ipomoea batatas* é uma planta herbácea perene, porém, quando cultivada é tratada como anual e possui uma grande variabilidade em sua morfologia. Apresenta um hábito de crescimento, predominantemente, prostrado com ramos se espalhando horizontalmente sobre o solo de forma rápida (NUNES, 2016).

Esta espécie possui dois tipos de raízes: a tuberosa, que é a parte da planta com maior interesse comercial, e a raiz absorvente, que é a responsável pela absorção de água e de nutrientes do solo (CAMARGO, 2013). As raízes absorventes se desenvolvem através das gemas e as raízes tuberosas, originam-se normalmente nos entrenós através do acúmulo de produtos fotossintéticos, apresentando uma periderme protetiva (casca externa ou pele), um córtex (casca interna) e uma polpa (NUNES, 2016).

A batata-doce é uma angiosperma, em que a maior parte das raízes se desenvolve nos primeiros 10 cm de profundidade do solo, havendo também uma raiz pivotante que pode atingir 1,30 m de profundidade (CAMARGO, 2013). Pode conter veias e dobras e possuir pele lisa ou rugosa. A pele da casca e polpa pode apresentar coloração variável de roxo, salmão, amarelo, rosa, creme ou branco. Seus formatos também podem variar, podendo ser redondo, oblongo, fusiforme ou alongado, sofrendo influências dos componentes genéticos, mas também são

afetadas pela estrutura e compactação do solo e pela presença de torrões e pedras. Quando as raízes apresentam deformações, são automaticamente rejeitadas pelos consumidores (MOREIRA, 2016). A ilustração da estrutura da planta pode ser observada na Figura 1.

**Figura 1 - Morfologia da *Ipomoea batatas***



**Fonte: AJAP (2017)**

Por ser uma planta tropical, para que haja um desenvolvimento vegetativo adequado, a planta exige temperatura média superior a 24 °C, alta luminosidade e um fotoperíodo longo, porém o surgimento de raízes tuberosas é favorecido em temperaturas médias combinadas com menor luminosidade, fotoperíodo curto e menor umidade. Em temperaturas inferiores a 10 °C, o desenvolvimento vegetativo diminui ou para e a produtividade decresce, sendo recomendado o plantio cinco meses antes das primeiras geadas em regiões temperadas (MIRANDA *et al.*, 1995).

A época de plantio varia conforme as condições locais, sendo fatores importantes à temperatura, chuva, luminosidade e fotoperíodo, e também em relação à precocidade, vigor e o tipo do cultivar utilizado. No Brasil, pode ser recomendado para a região Centro-Oeste, Sudeste e Sul sendo a melhor época de plantio de novembro a janeiro e para a região Nordeste o recomendado é no início da estação chuvosa (MIRANDA *et al.*, 1995).

A batata-doce desenvolve-se em vários tipos de solo, entretanto os ideais são os solos mais leves, areno-argiloso, soltos, bem estruturados, com média ou alta

fertilidade, bem drenados e com boa aeração. Solos com excesso de matéria orgânica, nitrogênio e umidade proporcionam o desenvolvimento de ramas e pouca formação de raízes (CASTRO, 2010).

*Ipomoea batatas* vem sendo utilizada tanto para o comércio quanto para a produção de alimentos de subsistência por produtores de base familiar, através da produção comercial de raízes e também uso na alimentação de animais, utilizando resíduos da parte aérea da planta e dos descartes de raízes. É uma alternativa na produção de biocombustível, amido, macarrão, farinhas entre outras coisas que fazem ser uma cultura considerada com diversas finalidades. Ao consumidor final ela está disponível de forma *in natura*, cozida, frita ou desidratada para fabricação de farinhas utilizadas em bolos, tortas, pães e doces (CASTRO, 2010; MOTA *et al.* 2011; MAINO *et al.*, 2019; GALERIANI *et al.* 2020).

Sendo uma grande fonte de vitaminas, minerais e ainda possuir um alto valor nutritivo, por conter carboidratos, a batata-doce também é apreciada por seu sabor e textura (VIZZOTO *et al.*, 2018). A composição nutricional da espécie pode ser observada na tabela 1.

**Tabela 1 - Composição nutricional da batata-doce**

Composição por 100g		
Nutrientes	Em gramas	Em miligramas
Proteína	1,30 g	-
Lipídeos	0,10 g	-
Carboidratos	28,20 g	-
Fibra alimentar	2,60 g	-
Cálcio	-	21,00 mg
Magnésio	-	17,00 mg
Manganês	-	0,14 mg
Fósforo	-	15,00 mg
Ferro	-	0,20 mg
Sódio	-	3,00 mg
Potássio	-	148,00 mg
Cobre	-	0,06 mg
Zinco	-	0,10 mg

Fonte: Adaptado de Barros Filho *et al.* (2011)



A cultura da batata-doce é a quinta hortaliça mais cultivada no Brasil, sendo a que apresentou o maior aumento da produção no período de 2008 a 2018, representando 95% de crescimento (IBGE, 2018). Apresenta uma enorme variabilidade genética, conferindo, assim, adaptabilidade a diferentes condições edafoclimáticas, apresentando, desta maneira, uma grande resistência a pragas, poucas exigências a fertilidade do solo e uma ampla adaptação, justificando o aumento da produção nacional (ACHUMACHER *et al.*, 2012).

Apesar disso, a cultura pode apresentar uma baixa produtividade quando houver uso de práticas de manejos culturais inapropriados e utilização de materiais genéticos inadequados, aumentando, assim, a suscetibilidade a pragas e a doenças de solos (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2012).

O mal-do-pé é uma das principais doenças da batata-doce, sendo causada pelo fungo *Plenodomus destruens*, que pode reduzir em até 80% a produtividade da cultura em razão aos danos causados na formação das mudas, na produção a campo das raízes, como também no armazenamento (PEREIRA *et al.*, 2011).

Geralmente, o fungo se instala na base da planta, formando necrose úmida, fazendo com que o caule seja anelado e a absorção de água e nutrientes seja interrompida. À medida que a cultura se desenvolve, grande quantidade de material vegetal seco e ramas com folhas murchas ou amareladas são observados (CLARK; MOYER, 1988).

O meio de controle dessa doença se constitui na escolha do local, escolhendo solos não infestados e bem drenados, rotação de cultura por dois ou três anos, fazer arranquio e queima de plantas doentes e evitar uso de adubação orgânica em locais com incidência da doença (PEREIRA *et al.*, 2011).

A broca-da-raiz é causada pelo besouro *Euscepes postfasciatus*, pertencentes à ordem Coleoptera e a família Curculionidae. As fêmeas depositam seus ovos nos orifícios feitos por elas nas raízes, nos nós e nas partes mais grossas das ramas. As larvas atacam tanto as ramas quanto as raízes, depositando dejetos fecais nas galerias feitas por elas. As raízes são as que sofrem maiores danos, onde em ataques severos a morte das partes aéreas pode vir à tona (SILVA *et al.*, 2008).

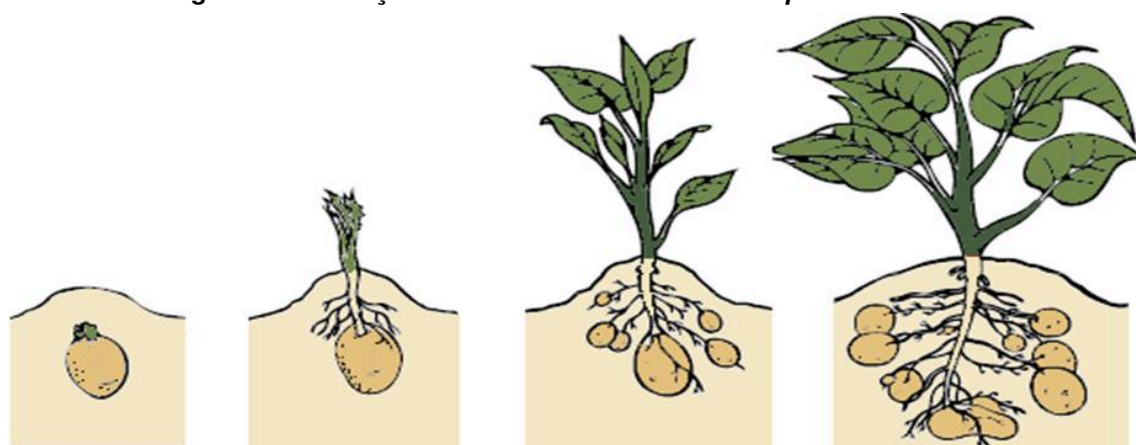
Normalmente, o controle dessas pragas é preventivo, através de rotação de culturas, para que os danos causados pelos insetos de solo diminuam, uma amontoa bem-feita e uma colheita precoce também previnem os danos dos mesmos (CASTRO, 2010).

Mais de 30 vírus infectam a cultura da batata-doce, podendo apresentar um quadro sintomatológico bastante variado (FERNANDES, 2013). Esses vírus são transmitidos, principalmente, por moscas brancas e por pulgões (VALVERDE *et al.*, 2004).

Dessa maneira, o quadro sintomatológico pode ir desde a ausência completa de sintomas até um mosaico severo, acompanhado de distorção das folhas em plantas mais jovens, podendo depender do genótipo e do grau de estresse em que a planta está submetida. Já em folhas mais velhas são observadas áreas cloróticas irregulares ao longo das nervuras e manchas cloróticas mais ou menos nítidas, podendo apresentar ou não bordos arroxeados nos espaços internervais (FERNANDES, 2013). O controle geralmente envolve tanto programas de limpeza clonal quanto o uso de cultivares resistentes (FERNANDES; DUSI, 2013).

A principal forma de propagação de batata-doce é por meio de rama-semente. Esta é retirada das partes mais novas do caule, tendo cerca de 60 cm da extremidade, pois desta maneira o enraizamento é mais rápido e há menos contaminação por pragas e por patógenos habitantes de solo. Durante o crescimento são identificadas as fases fisiológicas das mesmas, como demonstra a Figura 2. Na primeira fase predomina-se o desenvolvimento da parte aérea, tendo formação de raízes absorventes e das aptas à tuberização. Na segunda fase ocorre o crescimento radicular (tuberização) e vegetativo, e na terceira fase prevalece a tuberização (MOREIRA, 2016).

**Figura 2 - Ilustração do cultivo convencional da *Ipomoea batatas***



Fonte: Mybrain (2015)

Brune (2005), menciona que no método de propagação através das rama-semente, são utilizadas ramas com seis a oito nós, apresentando cerca de 30 a 40

cm de comprimento e que é necessário manter o solo com alto teor de umidade na primeira semana após o plantio para que as ramas-semente emitam raízes em poucos dias.

Outra forma de se propagar a batata-doce é através da micropropagação. Rogalski *et al.* (2003), destacam que as técnicas de cultivo *in vitro* são de grande importância por tornarem possível a propagação rápida de espécies e/ou variedades, e ainda por ser uma ferramenta de auxílio para a eliminação de patógenos, aumentando assim a qualidade de matrizes genéticas e tendo qualidade sanitária comprovada.

### **3.2 Cultivo *in vitro***

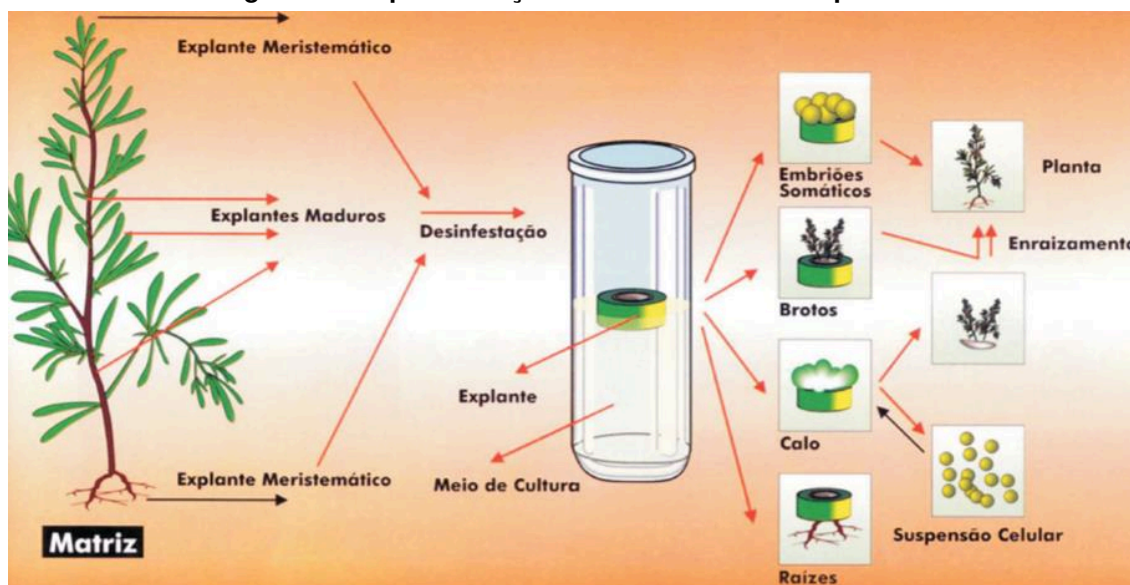
Originado dos trabalhos de Haberlandt, em 1902, o cultivo *in vitro* se baseia no princípio da totipotência, indicando que qualquer célula vegetal dispõe de um potencial que regenera uma nova planta completa (SILVA; FERREIRA, 2016). O objetivo desta técnica é a obtenção de uma nova planta idêntica a original, isto é, realização de uma clonagem vegetal, propagação assexuada de células ou organismos que tem a finalidade de obter um novo indivíduo, o que mantém o genótipo idêntico ao seu ancestral (ANDRADE, 2002).

Este método apresenta uma grande potencialidade, favorecendo assim a obtenção de novos genótipos, de linhas celulares e de híbridos que, na natureza não poderiam ser obtidos por conta das barreiras reprodutivas encontradas na hibridação sexual (CARVALHO; VIDAL, 2003).

Dessa maneira, o cultivo *in vitro* permite que o crescimento e multiplicação de células, tecidos, órgãos, ou parte destes, de uma planta, seja realizado através de um meio nutritivo, em condições assépticas em ambiente controlado (CARVALHO *et al.* 2006).

A cultura de tecidos é feita através de um explante, ou seja, todo segmento de tecido ou órgão vegetal que é utilizado para iniciar a cultura *in vitro*. Esse pode ser um fragmento de folha, de raiz, de caule ou de qualquer outro tecido vegetativo que responda às condições de indução do meio de cultura, visando à regeneração vegetal *in vitro* (ANDRADE, 2002). Na Figura 3, pode-se observar uma exemplificação de como é feito o cultivo *in vitro* das plantas.

Figura 3 - Esquematização da cultura *in vitro* de plantas



Fonte: Kerbauy (1997)

A micropropagação é uma modalidade dentro do cultivo *in vitro* que usa dessa técnica para obtenção de plantas livre de vírus a partir de um único explante inicial (CARVALHO *et al.*, 2006). Essa modalidade vem se proliferando e tem-se concentrado na produção comercial de plantas, fazendo com que haja multiplicação rápida em um curto período de tempo e em um espaço reduzido. Esta pode ser obtida também em larga escala, resultando na instalação de biofábricas comerciais, baseando-se no princípio de linha de produção e é, algumas vezes, automatizada (FUZITANI; NOMURA, 2004).

### 3.2.1 Aplicações e importância do cultivo *in vitro*

As técnicas de cultivo *in vitro* são de grande importância por tornar possível a propagação rápida de espécies e/ou variedades, e ainda por ser uma ferramenta de auxílio para a eliminação de patógenos, aumentando assim a qualidade de matrizes genéticas (ROGALSKI *et al.*, 2003).

As aplicações da cultura de tecido de maior impacto são aquelas de utilização no melhoramento genético de plantas e a de recuperação de genótipos livres de vírus e outros agentes fitopatogênicos (CANÇADO *et al.*, 2009). Além dessas, a técnica pode ser aplicada para outros fins, como a conservação de

germoplasma, propagação clonal e obtenção de metabólitos secundários (FALEIRO; ANDRADE, 2011).

A limpeza clonal é uma técnica de cultura de tecidos utilizadas em várias espécies de propagação vegetativa, como a batata-doce, morango, maçã, citros, entre outras espécies vegetais, com o objetivo de eliminar patógenos, oferecendo, assim, a possibilidade de produção de mudas saudáveis (FERNANDES, 2013). Desta forma, a propagação clonal consiste na multiplicação assexuada através de partes de plantas, sejam essas células, tecidos, órgãos ou propágulos, originando indivíduos idênticos a planta matriz (WENDLING, 2003).

A micropropagação é o método de propagação vegetativa mais utilizado, por apresentar vantagens na sua utilização, como a possibilidade de obter várias plantas através de um único explante inicial, ser independente de condições climáticas para se realizar, redução na área e no tempo necessário para a propagação de uma espécie em relação a forma natural, obter melhores condições sanitárias por meio de cultivo de meristemas, anteriormente, tratados por termoterapia, eliminar doenças e ajudar na propagação de espécies difíceis de serem propagadas por outros métodos (ERIG; SCHUCH, 2005).

Este método é iniciado a partir da extração de pequenos fragmentos de tecidos, como folhas, raízes, segmentos nodais, e gemas axiais, florais e apicais que são retirados de diversas partes da planta. Após isso, os explantes são limpos e desinfetados e transferidos em condições assépticas a um meio de cultura adequado, onde ocorrerá a diferenciação e a regeneração da planta inteira (CARVALHO *et al*, 2006).

A micropropagação pode ser realizada através da intensidade da quebra de dormência de gemas axilares; pela produção de gemas adventícias direta ou indiretamente sobre calos e através da embriogênese direta ou indireta (MURASHIGE, 1978).

### 3.2.2 Meios de cultura

O meio de cultura para a obtenção de uma planta *in vitro* deve promover condições adequadas ao crescimento e desenvolvimento da mesma (CORDEIRO *et al.*, 2014). Logo, a escolha desse meio é um fator de grande valia para a elaboração

de protocolos, assim como, a determinação da concentração ideal dos produtos orgânicos utilizados para o enriquecimento do mesmo, como a sacarose (LEMES *et al.*, 2016).

Quisen e Angelo (2008), apresentam dois estados físicos em que o meio de cultura pode ser utilizado, o líquido e semi sólido. Para que o meio fique no estado semi sólido é preciso utilizar uma substancia gelificante, normalmente, utiliza-se ágar, que é extraído de algas marinhas tendo a função de suporte à planta e também de consistência ao meio.

Os reguladores de crescimento são de extrema importância para a fase de multiplicação e enraizamento das plantas cultivadas *in vitro*. Desta maneira, os meios de cultura básicos podem sofrer alterações dependendo da exigência nutricional de cada fase da micropropagação, em que é frequente a utilização do mesmo meio para a fase de isolamento e multiplicação dos meristemas, sendo esses constituídos de macro e micronutrientes, vitaminas, componentes orgânicos, fonte de açúcar e outros compostos (FICK, 2007).

São encontradas variações em relação à composição e concentração dos meios de cultivo, dependendo de sua finalidade, desta forma, Quisen e Angelo (2008), apresentam as composições básicas dos meios de cultura mais utilizados dentro da cultura de tecidos e descrevem a utilização de cada meio (Tabela 2).

O meio de cultura White (1951) é utilizado com a tentativa de otimizar o crescimento de calo *in vitro*. Já o meio MS (Murashige e Skoog, 1962) apresenta uma elevada concentração de sais minerais, tendo utilização na morfogênese, cultura de meristema e regeneração das plantas, diferentemente do meio B5 (Gamborg *et al.*, 1968) que apresenta quantidades menores de sais minerais.

Meio SH (Schenk e Hildebrant, 1972) apresenta concentrações iônicas finais semelhantes ao meio B5, entretanto, contém níveis mais elevados de  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$  e  $\text{H}_2\text{PO}_4$ , tendo maior utilização para a cultura de leguminosas.

Meio Anderson (1978, 1980) apresenta 25% da concentração que o meio MS apresenta de íon nitrato, amônia e potássio e o dobro de níveis de  $\text{PO}^{-3}$ . Esse meio é mais utilizado em plantas lenhosas.

Meio *WPM* – *Wood Plant Medium* (Lloyd e Mc Cown, 1981) apresenta concentrações de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  idênticas ao meio Anderson, porém, possui níveis mais altos de íons sulfato e mais potássio. Têm ampla utilização na propagação de arbustos e árvores.

**Tabela 2 - Composição básica dos principais meios de cultura**

Componente	B5 <sup>a</sup>	H	LS	MS <sup>#</sup>	White *	WPM	SH
	mg L <sup>-1</sup>						
<b>Macronutrientes</b>							
CaCl <sub>2</sub>	-	166,0	-	-	-	-	-
CaCl <sub>2</sub> . 2 H <sub>2</sub> O	150,0	-	440,0	440,0	-	96,0	200,0
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . 4 H <sub>2</sub> O	-	-	-	-	300,0	556,0	-
KCl	-	-	-	-	65,0	-	-
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-	68,0	170,0	170,0	-	170,0	-
KNO <sub>3</sub>	2500,0	950,0	1900,0	1900,0	80,0	-	2500,0
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-	-	-	-	-	990,0	-
MgSO <sub>4</sub> . 7 H <sub>2</sub> O	250,0	185,0	370,0	370,0	720,0	370,0	400,0
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> . H <sub>2</sub> O	150,0	-	-	-	19,0	-	-
NaI <sub>2</sub> NO <sub>4</sub>	-	-	-	-	200,0	-	-
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	-	720,0	1650,0	1650,0	-	400,0	-
NH <sub>4</sub> HI <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-	-	-	-	-	-	300,0
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	134,0	-	-	-	-	-	-
<b>Micronutrientes</b>							
CoCl <sub>2</sub> . 6 H <sub>2</sub> O	0,025	-	0,025	0,025	-	-	0,1
CuSO <sub>4</sub>	-	-	-	-	-	-	-
CuSO <sub>4</sub> . 5 H <sub>2</sub> O	0,025	0,025	0,0253	0,025	0,001	0,25	0,2
Fe(SO <sub>4</sub> ) <sup>3</sup>	-	-	-	-	2,5	-	-
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	3,0	10,0	6,2	6,2	1,5	6,2	5,0
KI	0,75	-	0,83	0,83	0,75	-	1,0
MnSO <sub>4</sub> . 4 H <sub>2</sub> O	13,2	-	-	22,3	5,0	22,3	13,2
HI <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> . HI <sub>2</sub> O	-	-	-	-	1,25	-	-
NaI <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> . 2 HI <sub>2</sub> O	0,25	0,25	0,25	0,25	-	0,25	0,1
ZnSO <sub>4</sub> . 7 HI <sub>2</sub> O	2,0	10,0	8,6	8,6	3,0	8,6	1,0
Fe(SO <sub>4</sub> ) . 7 HI <sub>2</sub> O	27,8**	27,8	27,8	27,8	-	27,8	15,0
NaI <sub>2</sub> EDTA . 2 HI <sub>2</sub> O	37,2**	37,2	37,2	37,2	-	37,2	20,0
<b>Orgânicos</b>							
Ácido fólico	-	0,5	-	-	-	-	-
Ácido indol acético	-	0,1	-	-	-	-	-
Ácido nicotínico	1,0	5,0	-	0,5	-	-	5,0
Biotina	-	0,05	-	-	-	-	-
Glicina	-	2,0	-	2,0 <sup>#</sup>	-	-	-
Mio-inositol	100,0***	100,0	100,0	100,0	-	-	1000,0
Piridoxina.hcl	1,0***	0,5	-	0,5	-	-	0,5
Tiamina.hcl	10,0***	0,5	0,4	0,1	-	1,0 <sup>b</sup>	5,0

\*White (1963), <sup>b</sup> White (1937).\* \* Originalmente 25 mg/L de FeDTPA.

\* \* \*Gamborg (1977) inclui 1,3 mg L<sup>-1</sup> de nicotinamida; <sup>a</sup>Gamborg (1968);

<sup>#</sup>Murashige e Skoog (1962) suplementado também inclui 1g L<sup>-1</sup> de hidrolisado proteico.

Fonte: Adaptado de Quisen e Angelo, 2008

Os reguladores de crescimento vegetal são produtos sintéticos não endógenos que causam respostas fisiológicas e influenciam no crescimento e desenvolvimento da planta (SALISBURY; ROSS, 1994), Nesse sentido, para a cultura de batata-doce, os reguladores de crescimento mais utilizados junto ao meio de cultura MS e alguns dos efeitos na cultura, foram expressos na Tabela 3.

**Tabela 3 - Reguladores de crescimento utilizados e seus efeitos na cultura de *Ipomoea batatas***

Reguladores	Concentração	Efeito	Explante	Referência
<b>Auxinas</b>				
ANA( ácido naftaleno acético)	1 mg.L <sup>-1</sup>	Formação de parte aérea e raiz.	Segmentos nodais	Oliveira <i>et al.</i> (2013)
ANA (ácido naftaleno acético)	0,25 e 0,5 mg.L <sup>-1</sup>	Formação de raiz e gemas.	Gemas laterias	Mengs <i>et al.</i> (2018)
AIB (ácido indolilacético)	0,25 e 0,5 mg.L <sup>-1</sup>	Formação de raiz.	Gemas laterias	Mengs <i>et al.</i> (2018)
<b>Citocininas</b>				
BAP (Benzilamina-purina)	3,9 mg.L <sup>-1</sup>	Maior calejamento.	Segmentos nodais	Oliveira <i>et al.</i> (2013)
BAP (Benzilamina-purina)	1,0 mg.L <sup>-1</sup>	Maior número de segmentos nodais, crescimento.	Segmentos nodais	Flores <i>et al.</i> (2015)
BAP (Benzilamina-purina)	0,5 e 1,0 mg .L <sup>-1</sup>	Maior formação de gemas.	Gemas laterias	Mengs <i>et al.</i> (2018)
BAP (Benzilamina-purina)	2 mg.L <sup>-1</sup>	Indução da parte aérea.	Gemas laterias	Mengs <i>et al.</i> (2018)
Kn (cinetina)	0,5 mg.L <sup>-1</sup>	Maior formação de gemas.	Gemas laterais	Mengs <i>et al.</i> (2018)
Kn (cinetina)	2 mg.L <sup>-1</sup>	Indução da parte aérea.	Gemas laterais	Mengs <i>et al.</i> (2018)
Kin (cinetina)	2,5 mg.L <sup>-1</sup>	Indução da parte aérea.	Meristemas	Alam <i>et al.</i> (2010)
<b>Giberelinas</b>				
GA <sub>3</sub> (ácido giberélico)	1,0 e 0,1 mg. L <sup>-1</sup>	Não favoreceu o desenvolvimento da planta.	Segmentos nodais	Flores <i>et al.</i> (2015)
GA <sub>3</sub> (ácido giberélico)	0,5 mg.L <sup>-1</sup>	Indução da parte aérea.	Meristemas	Alam <i>et al.</i> (2010)
GA <sub>3</sub> (ácido giberélico)	10mg.L <sup>-1</sup>	Indução da parte aérea.	Segmentos nodais	Namanda <i>et al.</i> (2015)

Fonte: Autoria própria (2021)



Desta maneira, os reguladores de crescimento influenciam as funções fisiológicas e morfológicas da planta, podendo acelerar e melhorar a germinação de sementes, promover o crescimento de plantas jovens, atuando também nas estruturas celulares, provocando assim alterações físicas, químicas e metabólicas (VAN STENVENINCK, 1976; BEMLEY; BLACK, 1986; VEIRA *et al.*, 2010). ou seja, os reguladores de crescimento são produtos sintéticos que obtêm de funções similares à dos hormônios vegetais.

Para Torres *et al.* (1998), o uso de reguladores de crescimento é justificado para suprir possível deficiência endógena e melhorar características do cultivo *in vitro*. Como as giberelinas atuam de forma geral na divisão e alongamento celular, na quebra de dormência de gemas, no transporte de nutrientes, assim como no aumento dos tecidos meristemáticos, elas são bastante utilizadas. Destacando a GA<sub>3</sub>, também conhecida como ácido giberélico, por ser uma das mais ativas biologicamente, promovendo atividades intrínsecas e inerentes na promoção de desenvolvimento do caule (TAIZ; ZEIGER, 2009).

### 3.2.3 Metodologia para cultivo *in vitro* da batata-doce

A batata-doce é uma espécie que apresenta uma taxa elevada de multiplicação, comumente realizada por meio de ramos e raízes tuberosas (FERNANDES, 2013).

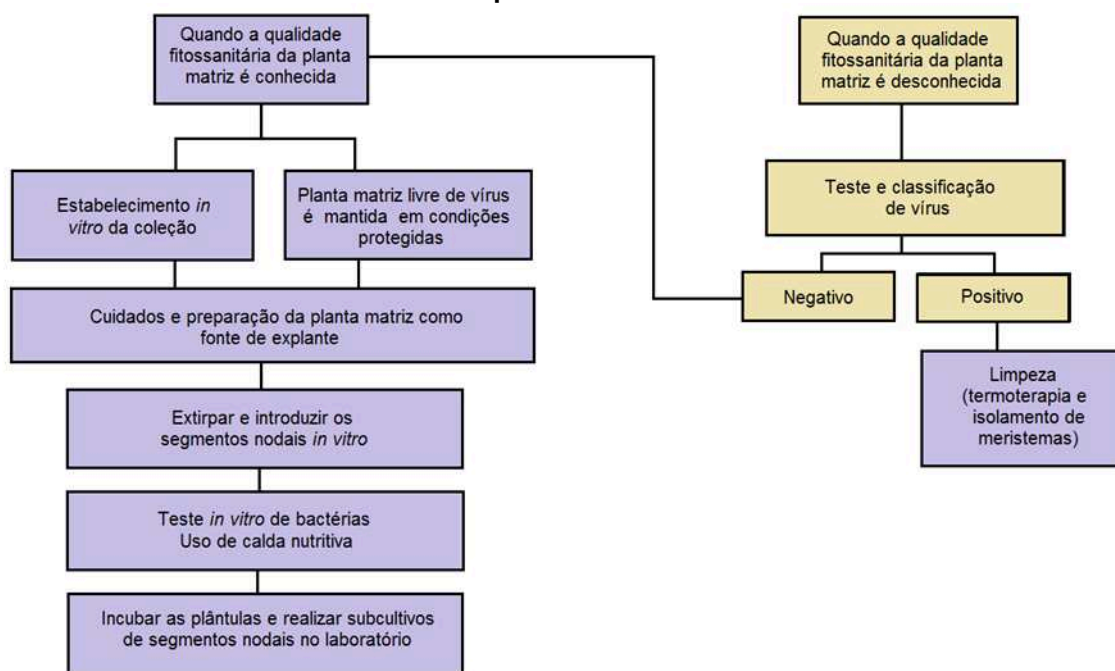
Os vírus são os fitopatógenos que mais causam danos quantitativos e qualitativos nos cultivos comerciais dessa cultura, em função da multiplicação vegetativa, dado que a incidência de plantas infectadas durante os sucessivos cultivos tende a aumentar (FERNANDES, 2013).

A batata-doce contém uma base genética muito ampla e a sua resposta da mesma à cultura de tecidos é altamente heterogênea (ALAM *et al.* 2013). Assim, o desenvolvimento de cultivares de elite e o cultivo em várias zonas ecológicas, integrado a práticas culturais adequadas que incluem o uso de materiais indexados a vírus tem sido de grande valia para aumentar o potencial de produção dessa cultura (SOUZA, 2018).

Dentre os processos utilizados para a erradicação de viroses, o mais utilizado é a cultura de meristemas, o qual demonstra maior eficiência. Essa efetividade deve-se à ausência de tecidos vasculares e pelo rápido crescimento do tecido meristemático, o que impede a penetração de partículas virais (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Nesse sentido, Namanda *et al.* (2015), demonstram através do esquema da Figura 4, quais são as etapas necessárias a serem seguidas quando se sabe a viabilidade fitossanitária da planta de batata-doce utilizada ou ainda quando se desconhece ela.

**Figura 4 - Fornecimento de explantes e micropropagação de plântulas através da sua qualidade**



**Fonte: Adaptado de Namanda *et al.* (2015)**

Assim, quando a qualidade fitossanitária é conhecida, o fornecimento de um material saudável é de suma importância, isso inclui uma utilização de plântulas livre de vírus e conservadas seguindo protocolos preestabelecidos. Também pode ser feito uso de plantas-mãe *in vivo* livre de vírus que foram mantidas em condições específicas e com diversos testes e verificações de seus estados de saúde após protocolos estabelecidos.

Um dos métodos utilizados para a detecção viral em plantas é o sorológico, esse caracteriza-se pelo emprego de anticorpos específicos capazes de reconhecer proteínas capsidiais. O método sorológico geralmente utilizado em batata-doce para

esse tipo de detecção é o ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*), em que são produzidos anticorpos contra a proteína capsidial do vírus em questão, e esses são empregados na sua detecção (FAJARDO; NICKEL, 2015). Nesse método são utilizados como antígenos os extratos preparados pela maceração de tecidos vegetais infectados em tampão (LIMA; FAJARDO, 2012). Existe também o teste de dot-ELISA, em que o extrato das amostras é fixado em membrana, sendo desta forma o contrário do teste de ELISA (FAJARDO; NICKEL, 2015).

Os métodos moleculares utilizados são baseados na detecção do ácido nucleico da transcrição reversa associada à reação em cadeia da polimerase (RT-PCR). Esse método baseia-se na amplificação e detecção do material genético dos vírus de RNA, ou no caso de vírus de DNA é utilizado apenas a PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (FAJARDO; NICKEL, 2015).

Existem também outros métodos moleculares que incluem hibridização, o *Northern blot* e o *Southern blot*, que são comumente utilizados na detecção de RNA e de DNA, respectivamente (FAJARDO; NICKEL, 2015). O *Southern blot* permite que os fragmentos de DNA sejam identificados com sondas de DNA, os quais hibridizam por ligação com hidrogênio para formar fragmentos complementares de DNA cromossômico. Já a análise de *Northern blot* faz o mesmo processo que o *Southern blot*, porém quem é usado para a sonda do RNA é o DNA complementar (ALMEIDA, 2010).

A indexação biológica é feita por meio de enxertia de gemas, porta-enxertos ou material de copa, sendo dependente do tipo do material vegetal. As plantas enxertadas são mantidas por até dois anos em casa de vegetação, após esse período é feita a avaliação final dos sintomas. Esse método é necessário para a detecção de vírus não caracterizados molecularmente e também para oferecer informações sobre características biológicas da espécie ou do isolado viral (FAJARDO; NICKEL, 2015).

Após feito o teste e classificação de vírus, se o resultado do teste for negativo ou se a qualidade da planta matriz da cultura for conhecida, deve-se dar atenção aos cuidados e as preparações com que essas plantas estão sendo submetidas, para que assim elas possam ser viabilizadas como fonte de explantes. Esses cuidados devem assegurar o bom estado fisiológico, tanto nutricional quanto hídrico, e também seu estado fitossanitário, pois isso facilitará a descontaminação do explante durante seu isolamento, quando a qualidade do explante for

desconhecida (CARVALHO; SILVA, 2012). Os explantes devem ser tirados de plantas vigorosas e sadias pela qual foram mantidas em crescimento ativo e que não estejam em estado de estresse ou sendo atacado por pragas e/ou doenças (CARVALHO *et al.*, 2006; GEORGE *et al.*, 2008; WILLADINO; CAMARA, 2005).

Posteriormente a isso, é feita a extirpação e introdução *in vitro* de segmentos nodais da batata-doce. Para isso, Namanda *et al.* (2015) apresentam dois tipos de protocolos, sendo esses desenvolvidos pelo Centro Internacional da Batata (conhecido como CIP, do seu nome em espanhol, *Centro Internacional de La Papa*) em 2010 e Dennien *et al.* (2003). Em plantas propagadas *in vitro* a taxa de propagação que é expressa pelo número de segmentos nodais ou microestaquia, é a variável que reflete diretamente no potencial de cada genótipo de formar novas mudas em um determinado intervalo de tempo (FLORES *et al.*, 2015).

O desenvolvimento de plantas de batata-doce a partir de gemas pré formadas, sem que haja a regeneração a partir de calos ou via gemas adventícias, é de grande importância para evitar distúrbios fisiológicos e variação somaclonal (ALAM *et al.*, 2010).

A avaliação de fungos e bactérias antes das plantas matrizes de batata-doce serem indexadas *in vitro* também é de extrema importância, por isso é avaliado se há presença de fungos ou bactérias. O CIP em 2010 desenvolveu um protocolo que orienta que se houverem plantas de batata-doce contaminadas elas devem ser incineradas. Por outro lado, se não houver, é feito o teste de detecção de bactérias na cultura, usando uma calda nutritiva após 4 a 5 semanas do cultivo e posteriormente o explante da planta matriz é cultivada *in vitro*. As que não tiverem bactérias e fungos são viabilizadas para uso, sendo realizados subcultivos através de seus segmentos nodais.

Quando não se conhece a qualidade da planta matriz de batata-doce ou quando o resultado do teste de vírus é positivo, é feito o isolamento meristemático ou a termoterapia. No processo de isolamento de meristemas são realizadas diversas etapas, incluindo a etapa de diferenciação dos meristemas, multiplicação, enraizamento e aclimação (DUTRA *et al.*, 2012).

Na cultura de meristemas é realizada a retirada desse tecido que é transferido para um meio de cultura contendo reguladores de crescimento, em que no processo de diferenciação ocorrerá a formação de brotações terminando de passar pelas etapas ditas anteriormente. No método de termoterapia as plantas

matrizes são expostas a um ambiente de temperatura elevada, que é variada conforme a espécie e cultivar, por um determinado período de tempo, para inativação do vírus na planta (PAIVA; PAIVA, 2001).

A etapa de enraizamento é a que define o resultado final da micropropagação, (ocorrendo a formação das raízes adventícias). Esse processo pode passar por indução, iniciação e alongamento das raízes, etapas que podem ser realizadas tanto *in vitro* quanto *ex vitro*, sendo um dos dois escolhidos conforme a qualidade do propágulo, a espécie, as condições do laboratório e dos recursos disponíveis.

Após essa fase as plantas são submetidas ao processo de aclimação, que se refere à adaptação das plantas ao *ex vitro*, antes das plantas serem transplantadas para o local definitivo (QUISEN e ANGELO, 2008). Comumente são realizadas em fítotron, que são ambientes com controle de temperatura, umidade relativa e luminosidade. Também são feitos em túneis de nebulização ou sob microaspersão, esse sendo utilizado para propágulos mais resistentes (GUERRA *et al.*, 2016).

#### 4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Cultura de Tecidos do departamento acadêmico de Ciências Agrárias da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, *campus* Pato Branco, sendo composto por três genótipos de batata-doce demonstrados na Tabela 4.

**Tabela 4 - Descrição das cultivares utilizadas**

Genótipo	Origem	Registro	Cor película	Cor polpa	Formato raiz	Ciclo (dias após plantio)
BRS AMÉLIA	BRA	27313	Rosa-claro	Alaranjada intensa	Elíptico longo	120-140
Beauregard	EUA	26934	Vermelho arroxeadado	Alaranjada intensa	Elíptico	150
BRS Rubissol	BRA	27314	Vermelho rubi	Creme	Redondo elíptico	120-140

Fonte: Adaptado de Abreu *et al.* (2015)

As raízes tuberosas de cada cultivar foram plantadas em vasos com solo e substrato e mantidas na casa de vegetação da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) *Campus* Pato Branco, como demonstrado na figura 5.

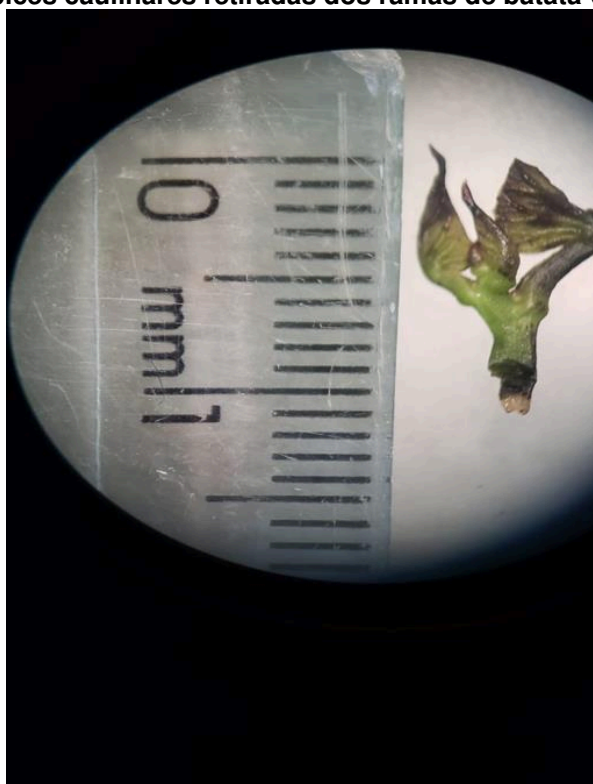
**Figura 5 - Vasos com as cultivares plantadas na casa de vegetação da UTFPR -PB, onde a Figura A representa a cultivar BRS Amélia e a Figura B representa a cultivar Beauregard**



Fonte: Autoria própria (2021)

Após a formação de brotos, foram retiradas as ramas e essas foram levadas até o laboratório de Cultura de Tecidos da UTFPR. Após isso fez-se a retirada dos ápices caulinares das mesmas. Dentro da câmara de fluxo laminar, os ápices foram submetidos à etapa de desinfestação. Nesta etapa colocaram-se os ápices em álcool 70% por um minuto e depois foram enxaguados em água esterilizada. Após isso foi feito uma imersão em hipoclorito de sódio a 2,5% por 15 minutos e em seguida foram feitos cinco enxagues, sendo o primeiro e o segundo logo após o descarte do hipoclorito de sódio, o terceiro e o quarto após cinco minutos e o quinto após 10 minutos do descarte. Os protocolos de desinfestação seguiram os descritos por Namanda *et al.* (2015). Após isso, com o auxílio de microscópio estereoscópico, realizou-se a retirada do explante meristema apical que possui apenas de 1 a 2 mm de altura. Desta forma, o meristema está localizado dentro desses ápices e entre os primórdios foliares, como exemplificado na Figura 6.

**Figura 6 - Ápices caulinares retiradas dos ramas de batata-doce**



**Fonte: A autoria própria (2021)**

Os explantes meristemáticos foram colocados em tubos de ensaios com dois diferentes meios de cultura, o meio MS sem regulador de crescimento e meio MS com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$ , sendo este último utilizado seguindo o protocolo

descrito por Namanda *et al.* (2015) .Após isso as cultivares foram incubadas a 25 °C  $\pm$  2 °C, com fotoperíodo de 16 horas, em incubadora BOD (demanda bioquímica de oxigênio).

O experimento foi composto por um bifatorial de dois meios de cultura, e quatro períodos de avaliação (7, 14, 21 e 28 dias após a introdução) para cada cultivar analisada separadamente. Foram avaliados o número e altura de brotos, o número de raízes, que foram aferidos utilizando um paquímetro, como também o percentual de contaminação dos explantes. Foram introduzidos 40 explantes por genótipo para cada meio de cultura utilizado, totalizando 80 explantes por genótipo.

Após isso os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e quando observada diferença significativa entre as variáveis analisadas, com nível de 5% de significância, foi realizada a análise de comparação de médias pelo Tukey, visando identificar o meio de cultura mais eficiente para cada genótipo avaliado.



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela 5 pode-se observar o número de amostras que contaminaram durante os 28 dias de cultivo em relação ao meio de cultivo utilizado para cada cultivar. O maior percentual (27,5%) foi observado na cultivar BRS Amélia em meio MS e o menor percentual de contaminação (7,5%) foi na mesma cultivar, porém para o meio enriquecido com GA<sub>3</sub>.

**Tabela 5 - Análise de contaminação aos 28 dias das cultivares de batata-doce em meio de cultura MS padrão e meio de cultura MS enriquecido com 10mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>. UTFPR, Pato Branco - PR**

Cultivar	BRS Amélia		Beauregard		BRS Rubissol	
	MS	MS c/ GA <sub>3</sub>	MS	MS c/ GA <sub>3</sub>	MS	MS c/ GA <sub>3</sub>
Nº de amostras	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0
Contaminação	11,0	3,0	5,0	6,0	9,0	7,0
% de contaminação	27,5	7,5	12,5	15,0	22,5	17,5

Fonte: Autoria própria (2021)

A Tabela 6 apresenta os resultados da análise de variância para as cultivares BRS Amélia, Beauregard e BRS Rubissol. É possível observar que a variação de tempo (dias), mostrou-se significativa em todos os tratamentos, a variação de meio de cultura foi significativa para altura e número de brotos para a cultivar BRS Rubissol e para o número de brotos para a cultivar BRS Amélia. Também é possível observar que a relação Dias x Meio de cultura só foi significativo para a altura dos brotos na cultivar BRS Rubissol.

**Tabela 6 - Análise de variância para o caractere de percentual regeneração das cultivares BRS Amélia, Beauregard e BRS Rubissol da cultura de batata-doce avaliados aos 7, 14, 21 e 28 dias. UTFPR, Pato Branco – PR**

Causas de variação	GL	QM					
		BRS Amélia		Beauregard		BRS Rubissol	
		Nbrot	Altbroto	Nbrot	Altbroto	Nbrot	Altbroto
Dias	3,0	0,4 **	1,2 **	0,7**	3,2 **	0,2 **	2,6 **
Meio de Cultura	1,0	0,8 **	0,4 <sup>ns</sup>	0,0 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	0,2 **	3,6 **
DiasxMeio de cultura	3,0	0,0 <sup>ns</sup>	0,1 <sup>ns</sup>	0,0 <sup>ns</sup>	0,1 <sup>ns</sup>	0,0 <sup>ns</sup>	0,3 **
Resíduo	21,0	0,1	0,1	0,0	0,2	0,0	0,0
CV (%)		24,6	21,6	16,9	21,7	12,5	11,8

GL (graus de liberdade). QM (Quadrado médio). ns – não significativo pelo teste F. \*\* significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. CV (coeficiente de variação). Nbrot (Número de Brotos). AltBrot (Altura de Brotos).

Fonte: Aatoria própria (2021)

A Tabela 7 apresenta os resultados de número de brotos e altura dos brotos para a cultivar BRS Amélia, nessa podemos observar que com 14 dias o número de brotos apresenta diferença estatística entre os tratamentos, indicando assim que o meio de cultura suplementado com GA<sub>3</sub> teve um impacto positivo no número de brotos com um tempo reduzido. Tendo em vista este resultado podemos associar a possibilidade da produção de brotos em 14 dias com a adição de GA<sub>3</sub>, enquanto sem a adição do mesmo demoraria 28 dias para uma produção semelhante.

A Tabela 7 indica também que o meio enriquecido com GA<sub>3</sub> possui uma maior produção de brotos no período de 28 dias, enquanto para o meio MS o número de brotos se mostrou estatisticamente igual em todos os períodos de tempo.

**Tabela 7 - Médias do número e altura de brotos da cultivar BRS Amélia submetida á dois meios de culturas e avaliados em 7, 14, 21 e 28 dias. UTFPR, Pato Branco – PR**

Dias	Número de brotos		Altura do Broto	
	MS	MS com GA <sub>3</sub>	MS	MS com GA <sub>3</sub>
7	0,7 Aa	0,9 Ab	1,2 c	1,1 b
14	0,7 Ba	1,2 Aab	1,4 bc	1,4 ab
21	1,1 Aa	1,4 Aab	1,9 ab	1,6 ab
28	1,2 Aa	1,5 Aa	2,2 a	1,8 a

**Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na Horizontal não diferem entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Tukey. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na Vertical não diferem entre si a 5 % de probabilidade de erro pelo teste de Tukey.**

Fonte: Aatoria própria (2021)

Ferreira Junior (2015), analisou o comprimento e o número de brotos para a cultivar BRS Amélia no período de 28 dias com concentração de 5mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>, foi encontrado um valor de número de brotos de 1,5, semelhante aos 1,5 encontrados neste trabalho, com a adição de 10mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>, suportando os resultados encontrados. Desta forma, observa-se que uma análise mais aprofundada quanto à dosagem se faz necessária.

A Tabela 8 apresenta os resultados de número e altura dos brotos para a cultivar Beauregard, nesta podemos observar que a adição de GA<sub>3</sub> não teve efeito significativo para o número de brotos e para a altura do broto.

**Tabela 8 - Médias do número e altura de brotos da cultivar Beaugard submetida á dois meios de culturas e avaliados em 7, 14, 21 e 28 dias. UTFPR, Pato Branco – PR**

Dias	Número de brotos		Altura do Broto	
	MS	MS com GA <sub>3</sub>	MS	MS com GA <sub>3</sub>
7	0,9 b	0,9 b	1,2 b	1,3 c
14	0,9 b	0,9 b	1,7 ab	1,7 bc
21	1,3 a	1,2 ab	2,2 a	2,4 ab
28	1,5 a	1,5 a	2,4 a	2,9 a

**Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na Horizontal não diferem entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Tukey. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na Vertical não diferem entre si a 5 % de probabilidade de erro pelo teste de Tukey.**

**Fonte: Aatoria própria (2021)**

A Tabela 9 apresenta os resultados de número de brotos e altura dos brotos para a cultivar BRS Rubissol, pode-se observar que o número de brotos para o meio MS enriquecido com GA<sub>3</sub> mostrou-se superior ao meio MS para os períodos de 21 e 28 dias. Essa diferença indica um impacto positivo do tratamento com GA<sub>3</sub> suportando assim a adição do composto para aumento da produção de brotos. É possível notar também que o meio enriquecido com GA<sub>3</sub> possui um maior crescimento dos brotos nos períodos de 14, 21 e 28 dias.

**Tabela 9 - Médias do número e altura de brotos da cultivar BRS Rubissol submetida á dois meios de culturas e avaliados em 7, 14, 21 e 28 dias. UTFPR, Pato Branco – PR**

Dias	Número de brotos		Altura do Broto	
	MS	MS com GA <sub>3</sub>	MS	MS com GA <sub>3</sub>
7	0,8 Ab	0,9 Ab	1,0 Ac	1,2 Ac
14	0,8 Ab	0,8 Ab	1,4 Bbc	2,1 Ab
21	0,9 Bab	1,2 Aa	1,7 Bab	2,6 Aa
28	1,0 Ba	1,3 Aa	1,9 Ba	2,9 Aa

**Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na Horizontal não diferem entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Tukey. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na Vertical não diferem entre si a 5 % de probabilidade de erro pelo teste de Tukey.**

**Fonte: Aatoria própria (2021)**

Ferreira Junior (2015), analisou a comprimento e o número de brotos para a cultivar BRS Rubissol no período de 28 dias com concentração de 5mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>, foi encontrado um valor de número de brotos de 2,0, sendo esse mais elevado que o encontrado neste trabalho.

Flores *et al.* (2014), analisou em seu estudo seis cultivares de batata doce explantadas com  $1\text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  no período de 30 dias, encontrando valores de números de brotos entre 0,9 e 1,1, esses valores aproximam-se dos encontrados nesse estudo, no presente estudo foram encontrados cultivares com valores acima deste citado, o cultivar BRS Amélia e o cultivar Beauregard apresentaram 1,5 como valor de número de brotos.

Simões *et al.* (2012), em seu estudo com pimenta (*Piper hispidinervum*) concluiu que concentrações de até  $1\text{ mg L}^{-1}$  aumentaram alongamento caulinar, porém, para esta espécie foi observado que concentrações acima de  $1\text{ mg L}^{-1}$  foram prejudiciais para o crescimento da raiz. Nesse sentido, evidencia-se a necessidade de estudos em relação ao possível potencial prejudicial em relação às raízes.

## 6 CONCLUSÃO

A cultivar BRS Amélia apresenta um maior número de brotamentos em menor intervalo de tempo quando cultivada em meio enriquecido com GA<sub>3</sub>, porém não foi observado efeito da GA<sub>3</sub> sobre a altura de brotos para esta cultivar.

A cultivar Beauregard não apresenta resposta em relação ao número e tamanho de brotos quando cultivada em meio enriquecido com GA<sub>3</sub>.

A cultivar BRS Rubissol apresenta maior número e altura de brotos após o intervalo de 21 dias quando cultivado em meio enriquecido com GA<sub>3</sub>.

A cultivar BRS Rubissol apresenta um melhor desempenho em relação a variável altura de brotos no meio enriquecido com GA<sub>3</sub>, em comparado com as cultivares BRS Amélia e Beaurigard.

O meio MS suplementado com GA<sub>3</sub> apresentou resultados relevantes para a obtenção de mudas de batata-doce.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, G. B.; AMARO, G. B.; FERNANDES, F. R. **Produtividade de cultivares de batata-doce na ilha de São Luís, Maranhão**. Embrapa Cocais. MA, 2015. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/154606/1/Boletim-Batata-Doce-V.Final.pdf>. Acesso em: 15 maio 2019.
- ALAM, i.; SHARMIN, S.A.; ALAM, J.M. Effect of growth regulators on meristem culture and plantlets establishment in sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] **Plant Omics Journal**. v. 3, n.2, p. 35-39. Austrália, 2010.
- ALAM, I.; *et al.* **Elimination and detection of viruses in meristem-derived plantlets of sweetpotato as a low-cost option toward commercialization**. v. 3, n. 2, p. 153-164, 2013.
- ALMEIDA, A. P.; *et al.* Aplicabilidade das técnicas de biologia molecular para a compreensão da foliculogênese inicial em mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 34, n. 3, p.133-148, 2010. Disponível em: <http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v34n3/RB236%20pag133-148.pdf>. Acesso em: 30 maio 2019.
- ANDRADE, S. R. M. **Princípios da cultura de tecidos vegetais**. Embrapa Cerrados, 2002. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/546466/1/doc58.pdf>. Acesso em: 19 abr. 2019.
- ANDRADE JÚNIOR, V. C.; *et al.* Características produtivas e qualitativas de ramas e raízes de batata-doce. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 584-589, 2012. Disponível em: [http://orgprints.org/29023/1/Andrade%20Junior\\_Caracteristicas.pdf](http://orgprints.org/29023/1/Andrade%20Junior_Caracteristicas.pdf). Acesso em: 05 abr. 2019.
- Associação dos Jovens Agricultores de Portugal. **Manual boas práticas para culturas emergentes: A cultura da batata-doce**. Lisboa, 2017. Disponível em: [https://culturasemergentes.ajap.pt/wp-content/uploads/2019/01/Manual\\_Culturas\\_Emergentes\\_Batata\\_Doce\\_Digital.pdf](https://culturasemergentes.ajap.pt/wp-content/uploads/2019/01/Manual_Culturas_Emergentes_Batata_Doce_Digital.pdf). Acesso em: 15 maio 2019.
- BARROS FILHO, A. A.; *et al.* **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – NEPA**. N. 4, p. 161, 2011. Disponível em: [http://www.cfn.org.br/wp-content/uploads/2017/03/taco\\_4\\_edicao\\_ampliada\\_e\\_revisada.pdf](http://www.cfn.org.br/wp-content/uploads/2017/03/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf). Acesso em: 06 abr. 2019.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. Boston, 1986.
- BRUNE, S.; SILVA, J. B. C.; FREITAS, R. A. **Novas técnicas de multiplicação de ramas de batata-doce**. Embrapa Hortaliças, 2005. Disponível em:

<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/779121/1/ct39.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2019.

CAMARGO, L. K. P. **Caracterização de acessos de batata-doce do banco de germoplasma da UNICENTRO, PR.** 2013. Disponível em: <https://www.acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/30073/R%20-%20T%20-%20LETICIA%20KURCHAIDT%20PINHEIRO%20CAMARGO.pdf?sequence=1>. Acesso em: 12 abr. 2019.

CANÇADO, G. M. A.; *et al.* **Cultivo *in vitro* e suas aplicações.** Belo Horizonte, 2009. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/234059674\\_Cultivo\\_de\\_plantas\\_in\\_vitro\\_e\\_suas\\_aplicacoes](https://www.researchgate.net/publication/234059674_Cultivo_de_plantas_in_vitro_e_suas_aplicacoes). Acesso em: 20 abr. 2019.

CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M. A. **Plantas matrizes na propagação vegetativa.** Embrapa Algodão, 2012. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/62105/1/Doc242.pdf>. Acesso em: 13 maio 2019.

CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M. A.; MEDEIROS, M. J. L. **Fatores inerentes à micropropagação.** Embrapa Algodão, 2006. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPA/18325/1/DOC148.pdf>. Acesso em: 19 abr. 2019.

CARVALHO, J. M. F.; VIDAL, M. S. **Noções de cultivo de tecidos vegetais.** Embrapa Algodão, 2003. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPA/16668/1/DOC116.PDF>. Acesso em: 19 abr. 2019.

CASTRO, L. A. S. **Instruções para Plantio de Mudas de Batata-doce com Alta Sanidade.** Embrapa Clima Temperado, 2010. Disponível em: [https://afubra.com.br/content/viveiro\\_muda/3/arquivos/6bc98e11b2870a99ff8e7c89899b3ccd.pdf](https://afubra.com.br/content/viveiro_muda/3/arquivos/6bc98e11b2870a99ff8e7c89899b3ccd.pdf). Acesso em: 05 abr. 2019.

CASTRO, T. C.; *et al.* Micropropagação de plantas medicinais: treinamento e capacitação de alunos de ciências biológicas na área de biotecnologia vegetal. **Revista Aproximando.** Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/316674508\\_MICROPROPAGACAO\\_DE\\_PLANTAS\\_MEDICINAIS\\_TREINAMENTO\\_E\\_CAPACITACAO\\_DE\\_ALUNOS\\_DE\\_CIEENCIAS\\_BIOLÓGICAS\\_NA\\_ÁREA\\_DE\\_BIOTECNOLOGIA\\_VEGETAL](https://www.researchgate.net/publication/316674508_MICROPROPAGACAO_DE_PLANTAS_MEDICINAIS_TREINAMENTO_E_CAPACITACAO_DE_ALUNOS_DE_CIEENCIAS_BIOLÓGICAS_NA_ÁREA_DE_BIOTECNOLOGIA_VEGETAL). Acesso em: 05 abr. 2019.

CLARK, C.A.; MOYER, J. W. Compendium of sweet potato diseases. *The Journal of Agricultural Science*, v. 112, n.3, p. 433-434, 1988.

CONAB. **Programa Brasileiro de Modernização do Mercado Hortigranjeiro.** 2019. Disponível em: <http://dw.ceasa.gov.br/#>. Acesso em: 12 nov. 2021.

CORDEIRO, G. M.; *et al.* Meio de cultura, BAP e ANA na multiplicação *in vitro* de clones de *Eucalyptus globulus* Labill clone. **Scientia Forestalis**. v. 42, n. 103, 9, 337-344, 2014. Disponível em: <https://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr103/cap03.pdf>. Acesso em: 08 maio 2019.

CRUZ, C. D. Genes – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 35, n. 3, p. 271 – 276, 2013.

DENNIEN, S.; *et al.* **Growing healthy sweetpotato: best practices for producing planting material**. [S. l.]: ACIAR, 2013. Disponível em: [http://aci.gov.au/files/node/15293/mn153\\_growing\\_healthy\\_sweetpotato\\_best\\_practices\\_12675.pdf](http://aci.gov.au/files/node/15293/mn153_growing_healthy_sweetpotato_best_practices_12675.pdf). Acesso em: 10 nov. 2021.

DIAS, C. T.; RUSSO, S. L. Estudo da batata-doce utilizando mapeamento de prospecção tecnológica. **II Simpósio internacional de inovação em cadeias produtivas do agronegócio**. 2016. Disponível em: <http://www.uces.br/etc/conferencias/index.php/lisimposioinovacaoagronegocio/simposioinovacaoagronegocioucs/paper/viewFile/4622/1481%202016>. Acesso em: 05 abr. 2019.

DUTRA, L. F.; *et al.* **Protocolos de micropropagação de plantas: IV-Morangueiro**. Embrapa Clima Temperado. 2012. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/952704/1/documento345.pdf>. Acesso em: 15 maio 2019.

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Micropropagação fotoautotrófica e uso da luz natural. **Ciência Rural**. 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v35n4/a39v35n4.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2019.

FAJARDO, T. V. **Limpeza clonal**. Embrapa Uva e Vinho. 2008. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/140367/1/limpeza-clonal.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2019.

FAJARDO, T. V. M.; NICKEL, O. **Técnicas de detecção e estudo de vírus em plantas**. Embrapa Uva e Vinho. 2015. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/131838/1/Comunicado-Tecnico-179.pdf>. Acesso em: 14 maio 2019.

FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M.; REIS JUNIOR, Fábio B. **Biotechnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária**. Embrapa Cerrados. 2011.

FERNANDES, F. R. **Limpeza clonal de batata-doce: produção de matrizes com elevada qualidade fitossanitária**. Embrapa Hortaliças, 2013. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/956451/1/ct117.pdf>. Acesso em: 12 maio 2019.

FERNANDES, F. R.; DUSI, A. N. **Viroses da batata-doce no Brasil: importância e principais medidas de controle**. Embrapa. 2013. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/84771/1/ct-126.pdf>. Acesso em: 12 maio 2019.



FERNANDES, A. M. *et al.* **Sistema de Produção de Batata-Doce**. Brasília: Embrapa, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/hortalicas/batata-doce/principais-regioes-produtoras>. Acesso em: 12 nov. 2021.

FERREIRA JUNIOR, M. U. **Utilização de biorreatores de imersão temporária na micropropagação de batata-doce**. 93. Dissertação (Mestrado) - Curso de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Pelotas, 2015.

FICK, T. A. **Estabelecimento *in vitro* e propagação de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrabida ex Steudel (Louro-pardo)**. 2007. Disponível em: <http://coral.ufsm.br/ppgef/images/Diss2007/Tiago-Antonio-Fick.pdf>. Acesso em: 08 maio 2019.

FLORES, R.; *et al.* Otimização da produção de plantas *in vitro* de cultivares de *Ipomoea batatas*. **Revista de Ciências Agrárias**. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.mec.pt/pdf/rca/v38n3/v38n3a18.pdf>. Acesso em: 15 maio 2019.

FUZITANI, E. J.; NOMURA, E. S. Produção de mudas *in vitro*. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. 2004. Disponível em: <https://ornamentalhorticulture.emnuvens.com.br/rbho/article/viewFile/318/311>. Acesso em: 19 abr. 2019.

GALERIANI, T. M. Batata-doce: uma revisão com ênfase na dinâmica do nitrogênio. **Revista Tocantinense de Geografia** -, Araguaína, v. 19, n. 09, p. 206-230, 2020.

GARCIA-GONZÁLES, R.; *et al.* **Regeneration of three *I. batatas* geotypes used as human food**. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. v. 80, n. 2, p. 215-219, 2005.

GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture**: in practice. N. 2, p. 1361, 1996.

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; KLERK, G. J. **Plant propagation by tissue culture**. v. 1, p. 38-64, 2008.

GUERRA, M. P.; *et al.* FIT5507 – **Biotecnologia I**. 2016. Disponível em: <http://fdgv.paginas.ufsc.br/files/2014/08/Apostila-Biotec-2016.1-Final.pdf>. Acesso em 15 maio 2019.

HUAMAN, Z. Systematic botany and morphology of the Sweetpotato plant. Technical Information Bulletin. **International Potato Center**. v. 25, p. 1-25, 1992.

International Potato Center, S. O. P. *In vitro* conservation of sweetpotato. **International Potato Center**. p. 30, 2015

IBGE - **INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA**. Brasil: IBGE, 2018.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola – Lavoura Temporária**: Batata-doce. Brasil: IBGE, 2020.

LEMES, C. S. R.; *et al.* Meios de cultivo e sacarose no crescimento inicial *in vitro* de *Miltonia flavescens*. *In: Ciência Rural*, 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v46n3/1678-4596-cr-46-03-00499.pdf>. Acesso em: 08 maio 2019.

LIMA, M. F.; FAJARDO, T.V. M. **Doenças causadas por vírus**. *In: LIMA, M. F.; MOREIRA, F.R. B. (Ed.) Uva de mesa: Fitossanidade*. 2 ed. Embrapa. p. 43-58. Brasília, 2012.

MAINO, S. C.; *et al.* Batata doce (*Ipomoea batata*) dentro do contexto de culturas energéticas, uma revisão. *Revista Brasileira Energias Renováveis*, v. 8, n. 4, p. 629-638, 2019.

MALAJOVICH, M. A.; MANN, V. S. **Micropropagação**: o cultivo *in vitro* no laboratório de ensino. Rio de Janeiro, [S.D.]. Disponível em: [https://bteduc.com/guias/80\\_Micropropagacao\\_laboratorio\\_ensino.pdf](https://bteduc.com/guias/80_Micropropagacao_laboratorio_ensino.pdf). Acesso em: 20 abr. 2019.

MARTIN, I., WENDT, D., HEBERER, M. **The role of bioreactors in tissue engineering**. *Trends in Biotechnology*. v. 22, p. 80-86, 2004.

MATSUMOTO, K.; CARDOSO, L. D.; SANTOS, I. R. I. **Manual de curadores de germoplasma - Vegetal: conservação *in vitro***. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Brasília, 2010. Disponível em: <https://www.embrapa.br/documents/1355163/2005846/doc318.pdf/8fb7e7da-99f1-4ead-99bd-e80fbfea9a29>. Acesso em: 20 abr. 2019.

MENGS, B.; CBIMDESSA, M.; ABRABA, E. *In vitro* propagation of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) through lateral bud culture. *In: International Journal of Innovative Pharmaceutical Sciences and Research*. 2018. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/329339704\\_IN\\_VITRO\\_PROPAGATION\\_OF\\_SWEET\\_POTATO\\_Ipomoea\\_batatas\\_L\\_Lam\\_THROUGH\\_LATERAL\\_BUD\\_CULTURE](https://www.researchgate.net/publication/329339704_IN_VITRO_PROPAGATION_OF_SWEET_POTATO_Ipomoea_batatas_L_Lam_THROUGH_LATERAL_BUD_CULTURE). Acesso em: 15 maio 2019.

MIRANDA, J. E. C.; *et al.* **A cultura da batata-doce**. Embrapa Hortaliças. Brasília, 1995. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/162018/1/A-cultura-da-batata-doce.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2019.

MOULIN, M. M.; *et al.* Caracterização de acessos de batata-doce baseado em características morfológicas. **Perspectivas Online**: Biológicas & Saúde. v. 4, p.23-36, 2014. Disponível em: [http://www.seer.perspectivasonline.com.br/index.php/biologicas\\_e\\_saude/article/view/51/441](http://www.seer.perspectivasonline.com.br/index.php/biologicas_e_saude/article/view/51/441). Acesso em: 30 maio 2019.

MORAES, A.P.; *et al.* Maize androgenesis: in vitro culture and microspore development in brazilian genotypes. **Plant cell culture micropopagation**. v. 5, n.2, p. 70-144, 2009.

MOREIRA, G. B. R. **Viabilidade de aplicação da seleção precoce em batata-doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] e a avaliação de caracteres relacionados à produção**. USP. 2016.

MOTA, J. H.; OLIVEIRA, J. F.; YURI, J. E. Qualidade de raízes de batata-doce comercializadas em Jataí-GO. **Congresso Brasileiro de Olericultura**. Voçosa, 2011. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/897495/1/JONYEISHIYURI12011.pdf>. Acesso em: 06 abr. 2019.

MURASHIGE, T. The impact of plant tissue culture on agriculture. *In*: Thorpe, T. A. Frontiers of plant tissue culture 1978. Calgary: **International Association of Plant Tissue Culture**. p. 15-26,518-524, 1978.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 4783-497, 1962.

MYBRAIN. **Tubérculos**. 2015. Disponível em: <https://mybrainsociety.blogspot.com/2015/06/tuberculos.html>. Acesso em: 16 maio 2019.

NAMANDA, S.; *et al.* Micropropagation and hardening sweetpotato tissue culture plantlets: A manual developed from the SASHA project's experience in Tanzania. **International Potato Centes**. 2015. Disponível em: [http://www.sweetpotatoknowledge.org/wp-content/uploads/2015/09/Manual\\_Hardening-Sweetpotato-Tissue-Culture-Plantlets\\_20150917.pdf](http://www.sweetpotatoknowledge.org/wp-content/uploads/2015/09/Manual_Hardening-Sweetpotato-Tissue-Culture-Plantlets_20150917.pdf). Acesso em: 12 maio 2019.

NUNES, H. F. **Batata-doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lamm.] nas roças e quintais do litoral paulista: diversidade genética morfoagronômica, com base em morfometria geométrica, descritores e produção de bioetanol**. USP. Piracicaba, 2016. Disponível em: [https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11137/tde-27092016-174325/publico/Hendrie\\_Ferreira\\_Nunes\\_versao\\_revisada.pdf](https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11137/tde-27092016-174325/publico/Hendrie_Ferreira_Nunes_versao_revisada.pdf). Acesso em: 12 abr. 2019.

OLIVEIRA, C. M.; *et al.* Efeito de reguladores de crescimento na micropropagação *in vitro* de batata-doce. **Global Science and Technology**. 2013. Disponível em: <https://rv.ifgoiano.edu.br/periodicos/index.php/gst/article/view/612/377>. Acesso em: 15 maio 2019.

OLIVEIRA, M. K. T.; *et al.* Multiplicação *in vitro* de batata-doce (*Ipomoea batatas* Lam.). **Revista Caatinga**. 2008. Disponível em: <https://www.redalyc.org/html/2371/237117689020/index.html>. Acesso em: 12 abr. 2019.

PAIVA, R.; PAIVA, P. D. O. **Cultura de tecidos**. UFLA – Universidade Federal de Lavras. 2001. Disponível em: [http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/15220/2/TEXT0%20ACADEMICO\\_Cultura%20de%20tecidos.pdf](http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/15220/2/TEXT0%20ACADEMICO_Cultura%20de%20tecidos.pdf). Acesso em: 13 maio 2019.

PEREIRA, R. B.; FERNANDES, F. R.; PINHEIRO, J. B.. **Recomendações para manejo da podridão-do-pé em batata-doce**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2011. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/916578/1/Cot79.pdf>. Acesso em: 30 maio 2019.

QUISEN, R. C.; ANGELO, P. C. S. **Manual de procedimentos do laboratório de cultura de tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental**. Embrapa Amazônia Ocidental. Manaus, 2008. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/47132/1/Doc-61-A5.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2019.

RAZDAN, M. K. Plant tissue culture. **Science Publishers**. EUA, 2002. Disponível em: [https://books.google.com.br/books?id=oe\\_lilY\\_tVsC&printsec=frontcover&hl=pt-BR&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.br/books?id=oe_lilY_tVsC&printsec=frontcover&hl=pt-BR&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false). Acesso em: 20 abr. 2019.

RODRIGUES, J. D.; FIOREZE, S. L. Reguladores são, para muitos cultivos, indispensáveis ao alcance de bons níveis. **Revista Visão Agrícola**. São Paulo, 2015. Disponível em: [https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA\\_13\\_Fisiologia-artigo4.pdf](https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA_13_Fisiologia-artigo4.pdf). Acesso em: 15 maio 2019.

ROGALSKI, M.; GUERRA, M. P.; SILVA, A. L. Multiplicação *in vitro* da ameixeira 'Santa Rosa': efeito da citocinina BAP. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, 2003. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-29452003000200050&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452003000200050&lng=en&nrm=iso&tlng=pt). Acesso em: 20 abr. 2019.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Fisiologia vegetal**. México, 1994. p 395-410.  
SANTOS-SEREJO, J. A.; JUNGHANS, T. G.; SOARES, T. L.; SILVA, K. M. **Meios nutritivos para micropropagação de plantas**. In: SOUSA, A. S.; JUNGHANS, T. G. **Introdução à micropropagação de plantas**, Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006.

SCHUMACHER, P. V.; MOTA, J. H.; YURI, J. E.; RESENDE, G. M. **Competição de cultivares de batata-doce em Jataí-GO**. Horticultura Brasileira. Brasília, 2012. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/67650/1/Jony-Eishi-Yuri1.pdf>. Acesso em: 06 abr. 2019.

SILVA, A. B.; *et al.* Métodos de micropropagação de abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 9, p.1257-1260, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pab/v42n9/06.pdf>. Acesso em: 30 maio 2019.

SILVA, J. B. C.; LOPES, C. A.; MAGALHÃES, J. S. **Batata-doce (*Ipomoea batatas*)**. Embrapa Hortaliças. Brasília, 2008. Disponível em: [https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Batata-doce/Batata-doce\\_Ipomoea\\_batatas/apresentacao.html](https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Batata-doce/Batata-doce_Ipomoea_batatas/apresentacao.html). Acesso em: 11 maio 2019.

SILVA, J. S. *et al.* Contaminação bacteriana, fúngica e oxidação fenólica na multiplicação “*in vitro*” de *Baccharis trimera*. XX Seminário Interinstitucional de ensino, Pesquisa e Extensão. Cruz Alta: Universidade de Cruz Alta, 2015. Disponível em: [https://home.unicruz.edu.br/seminario/anais/anais-2015/V%20SEMIN%C3%81RIO%20DE%20INICIA%C3%87%C3%83O%20CIENT%C3%8DFICA%20\(FAPERGS%20E%20CNPQ\)/PIBIC-EM-CNPq/CONTAMINACAO%20BACTERIANA%2C%20FUNGICA%20E%20OXIDACAO%20FENOLICA%20NA%20MULTIPLICACAO%20%E2%80%9CIN%20VITRO%E2%80%9D%20DE%20Ba.pdf](https://home.unicruz.edu.br/seminario/anais/anais-2015/V%20SEMIN%C3%81RIO%20DE%20INICIA%C3%87%C3%83O%20CIENT%C3%8DFICA%20(FAPERGS%20E%20CNPQ)/PIBIC-EM-CNPq/CONTAMINACAO%20BACTERIANA%2C%20FUNGICA%20E%20OXIDACAO%20FENOLICA%20NA%20MULTIPLICACAO%20%E2%80%9CIN%20VITRO%E2%80%9D%20DE%20Ba.pdf). Acesso em: 10 nov. 2021.

SILVA, M. M. A.; FERREIRA, L. T. **Cultivo *in vitro* de plantas e suas aplicações em cactáceas**. Instituto Nacional do Semiárido. 2016. Disponível em: <https://portal.insa.gov.br/images/acervo-cartilhas/Cultivo%20in%20vitro%20de%20plantas%20e%20suas%20aplica%C3%A7%C3%B5es%20em%20cact%C3%A1ceas.pdf>. Acesso em: 19 abr. 2019.

SIMÕES, M. A.; *et al.* Efeito do ácido giberélico (ag3) no alongamento *in vitro* de plântulas de pimenta longa (*Piper hispidinervum* c. dc.) durante a micropropagação. **Amazonia: ciência e desenvolvimento**. v.7, n.14, 2012.

SOUZA, C. A. **Viroma de batata-doce no Brasil e limpeza clonal de cultivares ricos em beta-caroteno**. Brasília, 2018. Disponível em: [http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/32186/1/2018\\_CarolinedoAmaralSouza.pdf](http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/32186/1/2018_CarolinedoAmaralSouza.pdf). Acesso em: 15 maio 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed., Artmed, 2009. 848p.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Embrapa/CBAB. Brasília, 1998. 509p.

VALVERDE, R. A.; SIM, J. G.; LOTRAKUL, P. **Whitefly transmission of sweet potato viruses**. v. 100, p. 123-128, 2004. VAN STEVENINCK, R. F. M. **Effect of hormones and related substances on ion transport**. *In*: LUTTGE, U.; G.PITMAN, M. (Ed.). Encyclopedia of plant physiology. Berlin: Springer, 1976.

VIEIRA, E. L.; *et al.* **Manual de fisiologia vegetal**. 230 p., 2010.

VIZZOTTO, M.; *et al.* Composição mineral em genótipos de batata-doce de polpas coloridas e adequação de consumo para grupos de risco. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/bjft/v21/1981-6723-bjft-21-e2016175.pdf>. Acesso: 05 abr. 2019.

WENDLING, I. **Propagação vegetativa**. Embrapa florestas. Paraná, 2003. Disponível em:

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/50925/1/Wendling.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2019.

WILLADINO, L.; CÂMARA, T. **Cultura de tecidos vegetais**. 2005.