



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE BIODIVERSIDADE E FLORESTAS
BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA**

TANARA PLETSCH DALLA COSTA

**INDUÇÃO DE CALOGÊNESE EM EXPLANTES FOLIARES
DE MANDIOCA EM RESPOSTA À SUPLEMENTAÇÃO
EXÓGENA DE AUXINAS**

**SANTARÉM, PARÁ
2019**

TANARA PLETSCH DALLA COSTA

**INDUÇÃO DE CALOGÊNESE EM EXPLANTES FOLIARES
DE MANDIOCA EM RESPOSTA À SUPLEMENTAÇÃO
EXÓGENA DE AUXINAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de graduação em Biotecnologia para a obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia; Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Florestas.
Orientadora: Profa. Dra. Eliandra de Freitas Sia.

SANTARÉM, PARÁ

2019

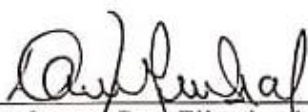
TANARA PLETSCH DALLA COSTA

**INDUÇÃO DE CALOGÊNESE EM EXPLANTES
FOLIARES DE MANDIOCA EM RESPOSTA À
SUPLEMENTAÇÃO EXÓGENA DE AUXINAS**

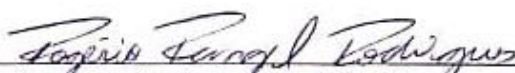
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de graduação em Biotecnologia para a
obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia;
Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto
de Biodiversidade e Florestas.

Conceito:

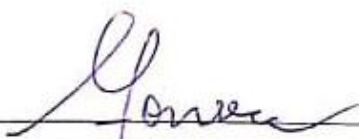
Data de aprovação 15/02/2019



Professora ~~Dr.~~ Eliandra de Freitas Sia – Presidente – Orientadora
Universidade Federal do Oeste do Pará



Professor Dr. Rogério Rangel Rodrigues
Instituto Federal do Pará



Professor Dr. Élcio Meira da Fonseca Júnior
Universidade Federal do Oeste do Pará

Aos meus pais Evair Dalla Costa e Clari Maria
Pletsch Dalla Costa, dedico com todo o amor.

AGRADECIMENTO

À Deus, pelo dom da vida, pelas inúmeras bênçãos e por me permitir realizar sonhos maiores do que eu imaginava;

À minha família, por ser a minha base e por todo amor e incentivo;

À minha orientadora, Prof. Dra. Eliandra de Freitas Sia, pelos ensinamentos, pela confiança e pela amizade ao longo de todo o trabalho;

Ao Laboratório de Micropropagação de Plantas *in vitro*, pela disponibilidade e estrutura que possibilitaram a execução deste trabalho;

Ao meu namorado, Giorgio Picanço, pelo companheirismo e amor em todos os momentos;

À todos os amigos que permaneceram comigo ao longo desta jornada e que tornaram a caminhada mais fácil, especialmente à Iasmin Paranatinga e Milla Correa;

E a todos que contribuíram direta e indiretamente para a execução deste trabalho.

“Um dia, quando olhares para trás, verás que os dias mais belos foram aqueles em que lutaste”

(Sigmund Freud)

RESUMO

A indução da calogênese em mandioca depende significativamente do seu genótipo. Devido a isso, faz-se necessário o estudo específico das diversas variedades da mandioca, visando o aprimoramento das técnicas envolvidas no processo de calogênese. Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do uso de diferentes tipos e concentrações de auxinas em combinação com 6-benzilaminopurina (BAP) na indução de calogênese a partir de explantes foliares de mandioca variedade BRS Kiriris. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 3 x 3, utilizando-se três auxinas (ácido naftalenoacético – ANA, ácido indolacético - AIA e ácido indolbutírico - AIB) em concentrações de 0,25, 0,5 e 1,0 mg L⁻¹, com cinco repetições. Foi realizado um tratamento controle, sem a adição de fitorreguladores. Após 60 dias de cultivo *in vitro*, avaliou-se o percentual de calos formados, a morfologia dos calos, o número de calos, a expansão, a massa fresca e a massa seca dos calos. Com exceção do controle experimental, confirmou-se a ocorrência da calogênese em todos os tratamentos, com uma variação de 73 a 100% de calos formados. A adição de AIB nas concentrações de 0,5 e 1,0 mg L⁻¹ proporcionou o maior número de calos, 1,78 e 1,77, respectivamente. A suplementação de ANA foi determinante para a maior expansão (12,09 mm) e massa fresca (515,00 mg) e seca (344,00 mg) dos calos. Portanto, a calogênese em explantes foliares da variedade de mandioca BRS Kiriris pode ser induzida pelo uso das auxinas ANA, AIA e AIB em combinação com BAP.

Palavras-chave: reguladores de crescimento vegetal, calos, *Manihot esculenta*, BRS Kiriris

ABSTRACT

The induction of callogenesis in cassava depends significantly on its genotype. Thus, it is necessary to study the specific varieties of cassava in order to improve the techniques involved in the callogenesis process. This work aims to evaluate the effects of different types and concentrations of auxins in combination with 6-benzylaminopurine (BAP) on the callogenesis induction from leaf explants of the BRS Kiriris cassava variety. The experimental design was completely randomized, in a 3 x 3 factorial scheme, in which three auxins (naphthaleneacetic acid - NAA, indoleacetic acid - IAA and indolebutyric acid - IBA) were used in concentrations of 0.25, 0.5 and 1.0 mg L⁻¹, with five replicates. A control treatment was performed, without the addition of phytohormones. After a 60-day in vitro culture, the percentage of calli formed, the morphology of callus, number of calli, expansion, fresh weight and callus dry mass were evaluated. Excepting the control treatment, callogenesis was confirmed in all treatments, with a variation of 73 to 100% of callus formation. The IBA addition in concentrations of 0.5 and 1.0 mg L⁻¹ provided the highest number of callus 1.78 and 1.77 calli, respectively. The NAA supplementation was determinant for the greatest expansion (12.09 mm) and fresh (515.00 mg) and dry mass (344.00 mg) of the calli. Therefore, callogenesis in leaf explants of the BRS Kiriris cassava variety can be induced by the use of NAA, IAA and IBA auxins in combination with BAP.

Keywords: plant growth regulators, calli, *Manihot esculenta*, BRS Kiriris

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	8
1 INTRODUÇÃO	9
2 MATERIAL E MÉTODOS	11
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
4 CONCLUSÃO	20
REFERÊNCIAS	20
ANEXO	23

Indução de calogênese em explantes foliares de mandioca em resposta à suplementação exógena de auxinas

Induction of callogenesis in cassava leaf explants in response to exogenous auxin supplementation

Resumo: A indução da calogênese em mandioca depende significativamente do seu genótipo. Devido a isso, faz-se necessário o estudo específico das diversas variedades da mandioca, visando o aprimoramento das técnicas envolvidas no processo de calogênese. Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do uso de diferentes tipos e concentrações de auxinas em combinação com 6-benzilaminopurina (BAP) na indução de calogênese a partir de explantes foliares de mandioca variedade BRS Kiriris. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 3 x 3, utilizando-se três auxinas (ácido naftalenoacético – ANA, ácido indolacético - AIA e ácido indolbutírico - AIB) em concentrações de 0,25, 0,5 e 1,0 mg L⁻¹, com cinco repetições. Foi realizado um tratamento controle, sem a adição de fitorreguladores. Após 60 dias de cultivo *in vitro*, avaliou-se o percentual de calos formados, a morfologia dos calos, o número de calos, a expansão, a massa fresca e a massa seca dos calos. Com exceção do controle experimental, confirmou-se a ocorrência da calogênese em todos os tratamentos, com uma variação de 73 a 100% de calos formados. A adição de AIB nas concentrações de 0,5 e 1,0 mg L⁻¹ proporcionou o maior número de calos, 1,78 e 1,77, respectivamente. A suplementação de ANA foi determinante para a maior expansão (12,09 mm) e massa fresca (515,00 mg) e seca (344,00 mg) dos calos. Portanto, a calogênese em explantes foliares da variedade de mandioca BRS Kiriris pode ser induzida pelo uso das auxinas ANA, AIA e AIB em combinação com BAP.

Palavras-chave: reguladores de crescimento vegetal, calos, *Manihot esculenta*, BRS Kiriris

Abstract: The induction of callogenesis in cassava depends significantly on its genotype. Thus, it is necessary to study the specific varieties of cassava in order to improve the techniques involved in the callogenesis process. This work aims to evaluate the effects of

different types and concentrations of auxins in combination with 6-benzylaminopurine (BAP) on the callogenesis induction from leaf explants of the BRS Kiriris cassava variety. The experimental design was completely randomized, in a 3 x 3 factorial scheme, in which three auxins (naphthalene acetic acid - NAA, indoleacetic acid - IAA and indolebutyric acid - IBA) were used in concentrations of 0.25, 0.5 and 1.0 mg L⁻¹, with five replicates. A control treatment was performed, without the addition of phytohormones. After a 60-day in vitro culture, the percentage of calli formed, the morphology of callus, number of calli, expansion, fresh weight and callus dry mass were evaluated. Excepting the control treatment, callogenesis was confirmed in all treatments, with a variation of 73 to 100% of callus formation. The IBA addition in concentrations of 0.5 and 1.0 mg L⁻¹ provided the highest number of callus 1.78 and 1.77 calli, respectively. The NAA supplementation was determinant for the greatest expansion (12.09 mm) and fresh (515.00 mg) and dry mass (344.00 mg) of the calli. Therefore, callogenesis in leaf explants of the BRS Kiriris cassava variety can be induced by the use of NAA, IAA and IBA auxins in combination with BAP.

Keywords: plant growth regulators, calli, *Manihot esculenta*, BRS Kiriris

1 Introdução

A mandioca (*Manihot esculenta*), pertencente à família das Euforbiáceas, é uma espécie vegetal originária do continente americano, constituindo-se como a principal fonte de carboidratos para os países da América do Sul, África, sudeste da Ásia e Oceania, e destacando-se como uma das mais importantes culturas de subsistência. Amplamente cultivada no mundo todo, suas raízes podem ser aproveitadas tanto na alimentação humana e animal quanto nos mais diversos setores da indústria (Kabir et al., 2015; Sesay et al., 2016).

Segundo o levantamento do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas (IBGE), em 2018 o Brasil produziu aproximadamente 19,3 milhões de toneladas de raízes, das quais cerca de 3,7 milhões de toneladas foram produzidas no estado do Pará (IBGE, 2019). Embora o Pará seja o maior produtor nacional de raízes, a sua produção reduziu nos últimos anos. A baixa produtividade da mandioca está associada à diversos

fatores bióticos e abióticos. Dentre eles, destaca-se a disseminação de pragas e doenças (Mongomake et al., 2015).

Dessa forma, a necessidade de aumentar a produção de mandioca implica no fornecimento de material propagativo de qualidade genética e fitossanitária (Ogero et al., 2012). Esse fator demanda constante atualização das técnicas biotecnológicas, as quais são fundamentais para os modernos programas de melhoramento. Neste trabalho foi utilizada a variedade BRS Kiriris, um dos produtos do Programa de Melhoramento Genético de Mandioca (PMG-M) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), cujas principais características são a alta produtividade e a resistência à podridão radicular (EMBRAPA, 2017).

Portanto, a biotecnologia vegetal, através da cultura de tecidos vegetais, dispõe de diversas ferramentas que podem representar uma alternativa aos métodos tradicionais de cultivo, fornecendo plantas de genótipos superiores e livres de doenças, em tempo e espaço reduzidos (Fletcher, 2011; Chavarriaga-Aguirre et al., 2016).

Dentre as técnicas da cultura de tecidos vegetais, destaca-se a calogênese, que consiste na formação de calos em um explante. O calo é uma massa celular indiferenciada, produzida a partir de tecidos vegetais diferenciados (Piassi & Piassi, 2016). Seu cultivo representa uma fase intermediária para diversos processos, tais como a embriogênese somática, a transformação genética, a produção de metabólitos secundários e a propagação em larga escala via organogênese indireta (Efferth, 2019).

Para induzir a formação de calos, qualquer tecido vegetal pode ser utilizado, porém, os tecidos mais jovens são os mais eficientes. Os explantes são cultivados em meio sólido e quando submetidos a balanços adequados de fitorreguladores do tipo auxinas e citocininas e a condições ideais de temperatura e luminosidade, promovem a calogênese. Embora já existam trabalhos relatando a calogênese em mandioca, a resposta morfogênica *in vitro* desta espécie é significativamente dependente das características genóticas de suas diferentes cultivares/variedades (Mongomake et al., 2015; Yandia et al., 2016; Efferth, 2019).

Dessa forma, o sucesso da calogênese em mandioca depende de estudos específicos para a variedade de interesse, visando a otimização dos processos de morfogênese *in vitro*. Levando em consideração tais fatores, o objetivo neste trabalho foi avaliar os efeitos do uso de diferentes tipos e concentrações de auxinas em combinação

com 6-benzilaminopurina na indução de calogênese em explantes foliares de mandioca da variedade BRS Kiriris.

2 Material e Métodos

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Micropropagação de Plantas *in vitro* da Universidade Federal do Oeste do Pará em parceria com o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, durante o segundo semestre de 2018. Neste trabalho foi utilizada a variedade de mandioca BRS Kiriris, caracterizada por alta produtividade e resistência à podridão radicular (EMBRAPA, 2017).

O experimento foi conduzido na forma de um delineamento inteiramente casualizado, em fatorial 3 (auxinas) x 3 (concentrações), além de um tratamento controle, totalizando 10 tratamentos. A unidade amostral foi constituída de uma placa de Petri contendo seis fragmentos foliares, com cinco repetições (placas) por tratamento.

Para a obtenção de explantes, plântulas de mandioca da variedade BRS Kiriris foram cultivadas *in vitro*, em meio MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 0,01 mg L⁻¹ de ácido naftaleno acético (ANA), 6-benzilaminopurina (BAP) e ácido giberélico (AG₃). Plântulas com cerca de 30 dias de desenvolvimento, oriundas do segundo repique da fase de multiplicação *in vitro*, foram utilizadas como fonte de explantes foliares.

Em uma câmara de fluxo laminar, as folhas foram reduzidas, assepticamente, em fragmentos de aproximadamente 0,5 cm², contendo tecido vascular. Em seguida, os explantes foram inoculados em placas de Petri contendo meio de cultura composto pelos macro e micronutrientes do MS, suplementado com sacarose (15 g L⁻¹) e solidificado com Phytigel (2 g L⁻¹). O pH do meio foi ajustado em 5,7 ± 0,2 antes da autoclavagem a 120 °C e 1 atm durante 20 minutos.

A Tabela 1 apresenta os tratamentos utilizados para a indução de calogênese. O tratamento 1 constituiu-se de um controle experimental, composto dos sais do MS na ausência de fitorreguladores. Os demais tratamentos consistiram na adição das auxinas ANA, ácido indolacético (AIA) e ácido indolbutírico (AIB) nas concentrações de 0,25, 0,5 e 1,0 mg L⁻¹ em combinação com 0,5 mg L⁻¹ de BAP.

Tabela 1. Concentração de reguladores de crescimento utilizados na calogênese em explantes foliares de mandioca variedade BRS Kiriris.

Table 1. Concentration of growth regulators used in callogenesis in leaf explants of cassava variety BRS Kiriris.

Tratamentos	Auxinas ¹	Concentração de auxina (mg L ⁻¹)	BAP (mg L ⁻¹)
1	-	-	-
2	ANA	0,25	0,50
3	ANA	0,50	0,50
4	ANA	1,00	0,50
5	AIA	0,25	0,50
6	AIA	0,50	0,50
7	AIA	1,00	0,50
8	AIB	0,25	0,50
9	AIB	0,50	0,50
10	AIB	1,00	0,50

¹ ANA – ácido naftalenoacético; AIA – ácido indolacético; AIB – ácido indolbutírico.

As placas de Petri foram mantidas durante 30 dias na ausência de luz a uma temperatura de 27 ± 2 °C. Posteriormente, as placas foram submetidas à iluminação por lâmpadas de Led, com densidade de fluxo de fótons de $30 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 27 ± 2 °C, onde permaneceram por mais 30 dias.

Após 60 dias de cultivo *in vitro*, avaliou-se a porcentagem, a morfologia, o número de calos formados e a expansão dos calos (mm), com o auxílio de um paquímetro analógico. As massas fresca e seca dos calos (mg) foram quantificadas em uma balança analítica com precisão de 0,0001 g. A massa seca foi determinada após a secagem dos calos por 48 horas em estufa a 60 °C, segundo a metodologia de Werner et al. (2010).

Para atender os pressupostos de normalidade, os dados referentes ao número, à expansão e à massa fresca e massa seca dos calos foram transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$ submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando *software* estatístico SisVar 5.6 (Ferreira, 2014).

3 Resultados e Discussão

Aos 60 dias de cultivo *in vitro* foi possível observar a formação de calos em explantes foliares de mandioca da variedade BRS Kiriris. A Figura 1 apresenta o processo de calogênese. Na Figura 1A nota-se os fragmentos foliares recém inoculados em meio de cultura. Na figura 1B é possível constatar o crescimento inicial de uma massa celular

nas laterais dos fragmentos foliares. Aos 60 dias de cultivo *in vitro*, os calos haviam se expandido, chegando a cobrir totalmente alguns explantes (Figura 1C).

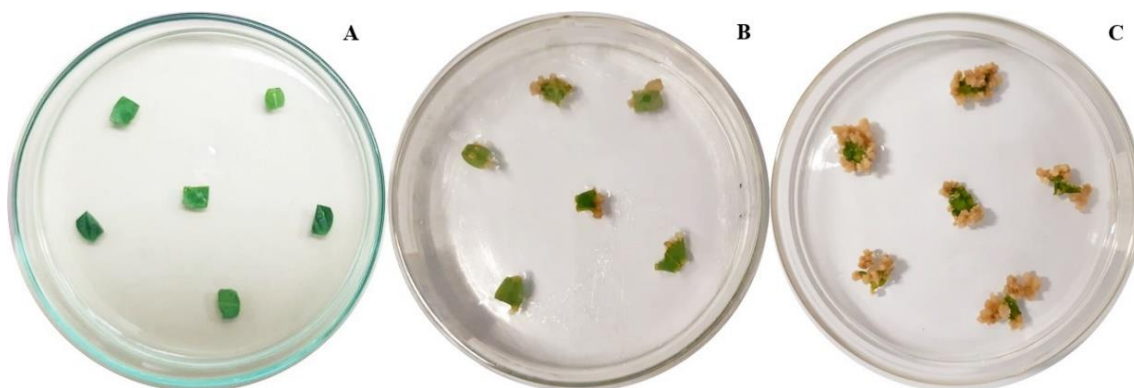


Figura 1. Calogênese em explantes foliares de mandioca. (A) Segmentos foliares inoculados em meio de cultura. (B) Início da formação dos calos aos 30 dias e (C) calos formados aos 60 dias de cultivo.

Figure 1. Callogenesis in leaf explants of cassava. (A) Foliar segments inoculated in culture medium. (B) Start of callus formation at 30 days of cultivation and (C) callus formed at 60 days of cultivation.

Aos 60 dias de inoculação dos explantes, observou-se a ocorrência de calogênese em todos os tratamentos e, independente da auxina utilizada e de sua concentração, obteve-se altas porcentagens, variando de 73 a 100% de calos formados (Figura 2).

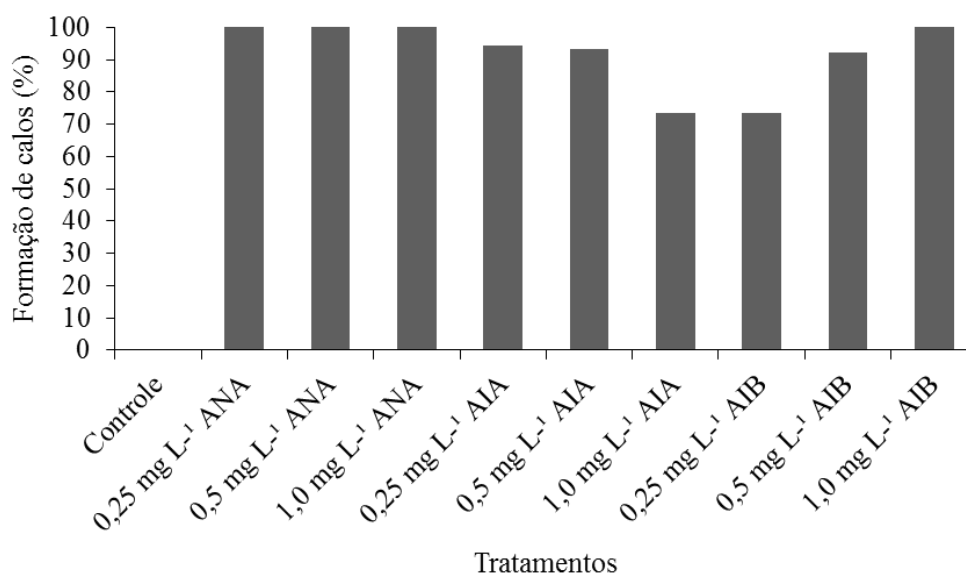


Figura 2. Percentual de calos formados em explantes foliares de mandioca variedade BRS Kiriris submetidos a diferentes tipos e concentrações de auxina em combinação com 0,5 mg L⁻¹ de BAP, aos 60 dias de cultivo *in vitro*.

Figure 2. Percentage of calli formed in leaf explants of BRS Kiriris variety submitted to different types and concentrations of auxin in combination with 0.5 mg L⁻¹ of BAP at 60 days of culture *in vitro*.

Conforme demonstra a Figura 2, a formação de calos atingiu os percentuais máximos quando os explantes foram cultivados na presença de ANA, independente das concentrações avaliadas (T2, T3 e T4). Porém, quando cultivados em meio de cultura contendo a auxina AIA, os percentuais de calogênese variaram entre 94% (T5), 92% (T6) e 73% (T7), de modo que a formação de calos diminuiu a medida que se aumentou a concentração dessa auxina.

Em contrapartida, observou-se uma relação diretamente proporcional entre o aumento das concentrações de AIB com os maiores percentuais de calogênese para essa auxina, os quais chegaram a 73, 92 e 100% (T8, T9 e T10, respectivamente). Não foi constatada a formação de calos no tratamento controle (T1), o qual não recebeu suplementação exógena de reguladores de crescimento (Figura 2).

Esses resultados evidenciam a necessidade de se adicionar reguladores de crescimento ao meio de cultura para a indução da calogênese, especialmente auxinas e citocininas. Embora as auxinas sejam mais utilizadas de forma isolada na indução de calos, o balanço intermediário entre estas duas classes de fitorregulares também promove a calogênese (Cid, 2014; Piassi & Piassi, 2016).

Ao analisar a relação citocinina/auxina dos tratamentos avaliados, conforme a Tabela 1, observa-se uma relação de 2:1, 1:1 e 1:2, respectivamente. Isto reforça o fato de que balanços intermediários destes fitorreguladores influenciam na calogênese. Enquanto uma razão elevada de auxina/citocinina estimula a formação de raízes, uma baixa razão favorece a formação da parte aérea e, em níveis intermediários, são capazes de induzir a formação de calos (Taiz & Ziger, 2013).

No que se refere às características morfológicas dos calos, observaram-se diferenças de coloração, textura e consistência. Segundo Flores (2006), o tipo de calo formado, o grau de diferenciação e o seu potencial morfogenético são dependentes, principalmente, do explante utilizado, do genótipo da planta, da composição do meio de cultura e dos reguladores de crescimento.

Em relação à morfologia, a Figura 3 apresenta dois tipos de calos observados nesse trabalho. O primeiro deles é um calo compacto, de coloração marrom clara, consistência rígida e textura granulosa (Figura 3A), o qual foi induzido pela adição de ANA. Em contrapartida, quando utilizado os fitorreguladores AIA e AIB, obteve-se calos friáveis,

ou seja, de consistência facilmente fragmentável, textura pouco granulosa e de coloração amarelada (Figura 3B).

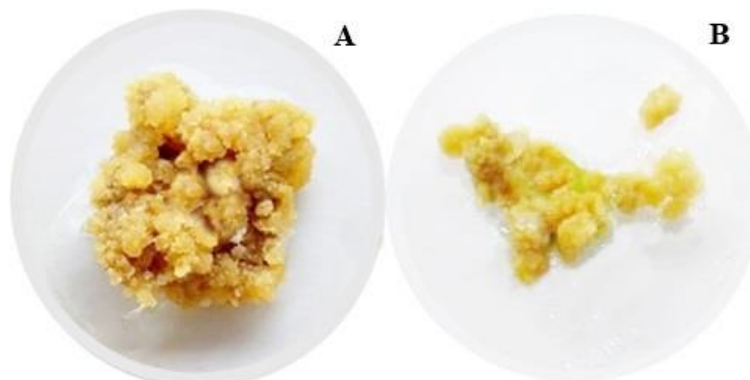


Figura 3. Características morfológicas dos calos formados. (A) Calo compacto induzido pela adição de ANA e (B) calos friáveis induzidos pela adição de IAA e AIB em meio MS + 0,5 mg L⁻¹ de BAP, aos 60 dias de cultivo *in vitro*.

Figure 3. Morphological characteristics of callus formation. (A) Compact calli induced by the addition of NAA and (B) friable calli induced by addition of IAA and IBA in MS medium + 0.5 mg L⁻¹ of BAP at 60 days of culture *in vitro*.

Grande parte dos trabalhos relacionados à calogênese em mandioca utilizaram outras auxinas para obter calos, principalmente o ácido diclorofenoxiacético (2,4-D). Fletcher et al. (2011) testaram diferentes concentrações de 2,4-D (8, 12 e 15 mg L⁻¹) em explantes de mandioca do tipo discos foliares, pecíolos e brotos axilares e obtiveram o maior percentual de calogênese (75%) quando utilizado 8 mg L⁻¹ de 2,4-D em explantes foliares. Resultados semelhantes foram obtidos por Ngugi et al. (2015), que alcançaram porcentagens de 74,7% a 93% de calogênese em diferentes variedades de mandioca do Quênia, com a suplementação de 8 mg L⁻¹ de 2,4-D.

Contudo, Fotso et al. (2014) verificaram a maior porcentagem de calogênese em segmentos nodais de mandioca, de 59,80%, com a adição de 0,08 mg L⁻¹ de ANA. Shiji et al. (2014), obtiveram um percentual de 100% de calogênese em segmentos nodais de mandioca quando submetidos ao meio MS suplementado com ANA nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5 mg L⁻¹. Além disso, observaram que a interação de ANA e BAP levou à formação de calos compactos nos explantes, como observado neste trabalho.

Feitosa et al. (2013) avaliaram a interação de diferentes concentrações de BAP e AIB na indução de calogênese em explantes foliares de *Jatropha curcas*, uma

Euphorbiaceae. Nesse estudo, os autores verificaram que balanços intermediários promoveram percentuais de 100% de calogênese (0,5 mg L⁻¹ de BAP e de AIB). Contudo, os calos formados foram compactos, diferindo dos calos obtidos neste trabalho, cuja interação de BAP e AIB levaram a formação de calos friáveis.

Werner et al. (2010) testaram a interação entre auxinas (2,4-D, AIA e AIB) e citocininas (BAP e KIN) no desenvolvimento de calos em tecidos foliares de pau-brasil. Os autores verificaram que os tratamentos com AIA não foram tão eficientes na promoção do crescimento dos calos quando comparados com os reguladores 2,4-D e AIB. Do mesmo modo, a interação de AIA e BAP acarretou em menor percentual de calogênese observada neste trabalho.

A Tabela 2 apresenta o resumo da análise de variância para as variáveis número de calos, expansão dos calos e massa fresca e seca dos calos em explantes foliares de mandioca da variedade BRS Kiriris, após 60 dias de cultivo *in vitro*. De acordo com a análise, houve efeito significativo na interação auxina x concentração apenas para a variável número de calos. As demais variáveis apresentaram diferenças significativas apenas para a auxina utilizada.

Tabela 2. Resumo da análise de variância, indicando o coeficiente de variação (CV) e graus de liberdade (GL) das variáveis resposta número de calos (NC), expansão dos calos (EC – mm), massa fresca dos calos (MFC – mg) e massa seca dos calos (MSC – mg) em explantes foliares de mandioca, aos 60 dias de cultivo *in vitro*, sob diferentes tipos e concentrações de auxinas.

Table 2. Summary of variance analysis, indicating the coefficient of variation (CV) and degrees of freedom (GL) of the variables response callus number (NC), callus expansion (EC - mm), fresh callus mass (MFC - mg) and callus dry mass (MSC - mg) in cassava leaf explants at 60 days of *in vitro* cultivation under different types and concentrations of auxin.

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio			
		NC	EC (mm)	MFC (mg)	MSC (mg)
Auxina	2	0,93*	6,84*	434,14*	422,86*
Concentração	2	0,25 ^{ns}	0,29 ^{ns}	16,05 ^{ns}	9,99 ^{ns}
Aux x Conc	4	0,44*	0,08 ^{ns}	4,99 ^{ns}	3,76 ^{ns}
Erro	45	0,10	0,04	3,28	1,87
CV (%)		24,06	7,37	12,37	12,84
Média Geral		1,31	7,83	250,78	147,20

* significativo pelo teste de F a 5% de probabilidade.

^{ns} não significativo.

Conforme mostra a Tabela 3, a suplementação de AIB nas concentrações de 0,5 e 1,0 mg L⁻¹ promoveu um maior número de calos por explante, 1,78 e 1,77,

respectivamente. A concentração de 1,0 mg L⁻¹ de AIB propiciou maior número de calos em comparação à auxina ANA, a qual apresentou o menor resultado para esta variável.

Tabela 3. Valor médio do número de calos em explantes foliares de mandioca, aos 60 dias de cultivo *in vitro*, sob diferentes tipos e concentrações de auxinas.

Table 3. Average number of calli in cassava leaf explants at 60 days of *in vitro* cultivation under different types and concentrations of auxin.

Concentrações (mg L ⁻¹)	Número de calos		
	ANA	AIA	AIB
0,25	1,11 aA	1,39 aA	1,03 bA
0,50	1,09 aB	1,29 aB	1,78 aA
1,00	1,03 aB	1,33 aAB	1,77 aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si segundo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Embora a adição de ANA tenha promovido menor número de calos por explante, com uma média de 1,08 calos, estes apresentaram maior expansão e massa com relação as demais auxinas, como demonstrado na Tabela 4. No que se refere à expansão dos calos, ANA foi significativamente superior às demais auxinas, proporcionando incrementos de até 53,18% no tamanho dos calos. As auxinas AIA e AIB apresentaram expansão dos calos semelhantes entre si. Quanto à massa dos calos, novamente foi verificado efeito significativo das auxinas. A adição de ANA resultou em maior massa fresca e seca dos calos, com incrementos de até 80,58% em massa fresca e de até 89,83% em massa seca, em comparação aos demais tratamentos (Tabela 4).

Tabela 4. Valores médios da expansão dos calos (EC – mm), da massa fresca (MFC – mg) e da massa seca dos calos (MSC – mg) em explantes foliares de mandioca, aos 60 dias de cultivo *in vitro*, sob diferentes tipos de auxinas.

Table 4. Mean values of callus expansion (EC - mm), fresh mass (MFC-mg) and callus dry mass (MSC - mg) in cassava leaf explants at 60 days of *in vitro* cultivation under different types of auxin.

Auxinas	EC (mm)	MFC (mg)	MSC (mg)
ANA	12,09 a	515,00 a	344,00 a
AIA	5,74 b	100,00 b	35,00 b
AIB	5,66 b	137,35 b	63,00 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si segundo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A Figura 4 ilustra a calogênese em explantes foliares de mandioca variedade BRS Kiriris, em função da suplementação com diferentes auxinas, aos 60 dias de cultivo *in*

in vitro. Na figura 4A, observa-se os fragmentos foliares despigmentados e sem a formação de calos, constituindo-se do tratamento controle, sem fitoreguladores. Por sua vez, a figura 4B exibe os calos formados com a adição de ANA, os quais são visivelmente maiores do que os calos obtidos com AIA (Figura 4C) e com AIB (Figura 4D).

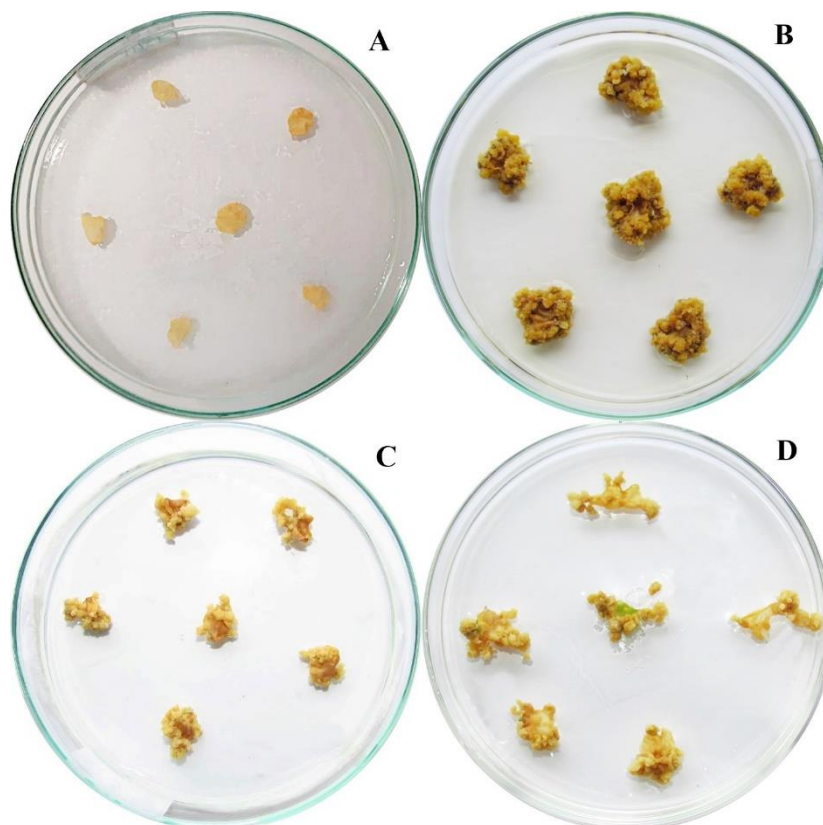


Figura 4. Calogênese em explantes foliares de mandioca variedade BRS Kiriris aos 60 dias de cultivo *in vitro*. (A) Controle experimental sem adição de fitoreguladores. Calos formados com a adição de (B) ANA, (C) AIA e (D) AIB, aos 60 dias de cultivo *in vitro*.

Figure 4. Callogenesis in leaf explants of cassava variety BRS Kiriris at 60 days of *in vitro* culture. (A) Experimental control without addition of phytohormones. Calli formed with the addition of (B) NAA, (C) IAA and (D) IBA at 60 days of *in vitro* cultivation.

Fotso et al. (2014) obtiveram a maior massa fresca de calos de mandioca quando cultivados na presença de $0,07 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA, chegando a $1.337,40 \text{ mg}$. Quando utilizada a concentração de $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA, a massa fresca dos calos chegou a $529,30 \text{ mg}$, resultado semelhante ao obtido neste trabalho com a média de todas as concentrações utilizadas de ANA ($515,00 \text{ mg}$).

Werner et al. (2010) observaram que as interações entre AIA e BAP e AIB e BAP resultaram em menor massa seca de calos de pau-brasil (10,43 e 14,00 mg, respectivamente), quando comparada à interação entre 2,4-D e BAP (16,18 mg), após 60 dias de cultivo *in vitro*. De modo semelhante, neste trabalho as interações de AIA e AIB com BAP resultaram em menor massa fresca (100,00 e 137,35 mg) e seca (35,00 e 63,00 mg, respectivamente) dos calos de mandioca.

Por meio deste trabalho, observou-se o potencial morfogenético da variedade BRS Kiriris, a qual obteve um alto percentual de calogênese, com mais de um calo por explante e com grande proliferação celular, refletindo na expansão e massa dos calos. Tais resultados são devido a três principais fatores: tipo de explante utilizado, reguladores de crescimento adicionados ao meio de cultura e genótipo da planta.

No que se refere ao explante, os segmentos foliares são tecidos amplamente conhecidos e utilizados na indução de calos, pois são tecidos menos lignificados, menos recalcitrantes, altamente responsivos ao meio de cultura e totipotentes. Estas características facilitam a desdiferenciação dos tecidos foliares e, conseqüentemente, a calogênese (Fletcher, 2011).

Em relação aos reguladores de crescimento, todas as auxinas utilizadas em combinação com BAP promoveram o desenvolvimento de calos, mesmo em concentrações menores do que as utilizadas em estudos similares. É possível que a variedade BRS Kiriris possua um maior nível de hormônios endógenos, de modo que o seu requerimento por concentrações exógenas adicionadas ao meio de cultura sejam menores para formar calos.

A concentração endógena de hormônios está diretamente relacionada ao terceiro fator, o genótipo da planta. Ou seja, as características genotípicas da variedade BRS Kiriris tornam esta variedade passível à calogênese. Em trabalhos anteriores sobre a micropropagação de ápices caulinares desta mesma variedade, observou-se alta formação de calos, reforçando tal hipótese.

Diante do exposto, fica evidente a importância do ajuste do meio de cultura e das condições de cultivo para cada variedade de interesse, uma vez que as diferentes combinações desses componentes determinarão o sucesso da resposta morfogenética *in vitro*.

4 Conclusão

As auxinas ANA, AIA e AIB usadas em combinação com BAP induziram a formação de calos em explantes foliares de mandioca variedade BRS Kiriris.

A auxina ANA promoveu maior percentual, expansão e massa fresca e seca dos calos. Por sua vez, AIB induziu maior número de calos por explante.

A concentração de auxina não influenciou na expansão e massa dos calos.

Referências

CHAVARRIAGA-AGUIRRE, P.; BRAND, A.; MEDINA, A.; PRÍAS, M.; ESCOBAR, R.; MARTINEZ, J.; DÍAZ, P.; LÓPEZ, C.; ROCA, W. M.; TOHME, J. The potential of using biotechnology to improve cassava: a review. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, v. 52, p. 461-478, 2016.

CID, L. P. B.; TEIXEIRA, J. B. Explante, meio nutritivo, luz e temperatura. In: CID, L. P. B. (Ed.). *Cultivo in vitro de Plantas*. Brasília, DF: Embrapa, 2014. p. 17-51.

EFFERTH, T. Biotechnology applications of plant callus cultures. *Engineering*, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.11.006>>. Acesso em: 15 de janeiro de 2019.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *BRS Kiriris: variedade de mandioca industrial recomendada para as microrregiões de Valença, Jequié e Santo Antônio de Jesus, BA*. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2017. Disponível em: <<http://www.embrapa.br>>. Acesso em: 17 de dezembro de 2018.

FEITOSA, L. S.; COSTA, A. S.; ARRIGONI-BLANK, M. D. F.; DIBAX, R.; BOTÂNICO, M. P.; BLANK, A. F. Indução e análise histológica de calos em explantes foliares de *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae). *Bioscience Journal*, v. 29, n. 2, p. 370-377, 2013.

FERREIRA C. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2014.

FLETCHER, E. K. A.; AMOAKO, T. N. E.; TWUMASI, P. Effect of 2, 4-D, explants type and cultivar on the callogenesis expression of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in Ghana. *African Journal of Biotechnology*, v. 10, n. 46, p. 9396–9401, 2011.

FLORES, R. *Cultura de tecidos e produção de β-ecdisona em Pfaffia glomerata e Pfaffia tuberosa (Amaranthaceae)*. 2006. 168p. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

FOTSO, E. H. D. B.; TCHOUGA, A. O.; DJEUANI, A. C.; MBOUOBDA, H. D.; OMOKOLO, N. D. Effect of exogenous phytohormones and sucrose on micropropagation and microtuberisation of *Manihot esculenta* Crantz var. TMS 96/0023. *African Journal of Biotechnology*, v. 13, n. 39, p. 3966-3976, 2014.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. SIDRA - Levantamento Sistemático da Produção Agrícola Tabela 1618 - Área plantada, área colhida e produção, por ano da safra e produto das lavouras. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618>>. Acesso em: 04 de janeiro de 2019.

KABIR, M. H.; MAMUN, A. N. K.; ROY, P. K.; ISLAM, M. R.; JAHAN, M. T.; TALUKDER, S. U. In vitro propagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Nuclear Science and Applications*, v. 24, n. 1, p. 23-28, 2015.

MONGOMAKE, K.; DOUNGOUS, O.; KHATABI, B.; FONDONG, V. N. Somatic embryogenesis and plant regeneration of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) landraces from Cameroon. *SpringerPlus*, v. 4, n. 447, p. 1-12, 2015.

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

NGUGI, M. P.; ODUOR, R. O.; OMWOYO, R. O.; NJAGI, J. M.; MGUTU, A. J.; CHERUIYOT, R. C. Regeneration of Kenyan cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes. *Journal of Plant Biochemistry and Physiology*, v. 3, n. 2, p. 1-7, 2015.

OGERO K. O.; GITONGA N. M.; MWANGI M.; OMBORI O.; NGUGI M. Cost-effective nutrient sources for tissue culture of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *African Journal of Biotechnology*, v. 11, n. 66, p. 12964-12973, 2012.

PIASSI, M.; PIASSI, M. Otimização de protocolo para indução da calogênese in vitro em folhas cotiledonares de alface (*Lactuca sativa* L.). *Revista Científica Intelletto*, v.1, n.3, p. 19-26, 2016.

SHIJI, R.; JAMES, G.; SUNITHA, S.; MUTHURAJ, R. Micropropagation for rapid multiplication of planting material in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Journal of Root Crops*, v. 40, n. 1, p. 1-8, 2014.

SESAY, J. V.; AYEYEH, K. O.; NORMAN, P. E.; ACHEAMPONG, E. Shoot nodal culture and virus indexing of selected local and improved genotypes of cassava (*Manihot esculenta*) from Sierra Leone. *International Journal of Biotechnology and Molecular Biology Research*, v. 7, n. 2, p. 20-28, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 5.ed. Porto Alegre: Artemed, 2013. 954p.

WERNER, E. T.; MILANEZ, C. R. D.; MENGARDA, L. H. G.; VENDRAME, W. A.; CUZZUOL, G. R. F. Meios de cultura, reguladores de crescimento e fontes de nitrogênio na regulação da calogênese do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). *Acta Botanica Brasilica*, v. 24, n. 4, p. 1046-1051, 2010.

YANDIA, S. P.; GANDONOU, C. B.; SILLA, S.; ZINGA, I.; DAMBIER, D. Effect of explant source and different medium culture on friable embryogenic callus induction of four cultivars of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *International Journal of Scientific & Technology Research*, v. 5, n. 6, p. 340–345, 2016.

ANEXO

Instruções aos autores – Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences

Formato e preparação do manuscrito

Todos os arquivos devem estar completos e revisados, segundo as “Diretrizes para autores” desta revista. Devem ser preparados utilizando o editor de texto Microsoft Word 2007 ou posterior, conforme as seguintes especificações:

- Folha tamanho A4 (210 x 297 mm)
- Margens de 3 cm
- Recuo de parágrafos de 1,25 cm
- Espaçamento 1,5 entre linhas
- Formatação em coluna única
- Fonte *Times New Roman*, tamanho 12
- Numeração sequencial de páginas na parte superior direita em algarismos arábicos
- Figuras e tabelas devem estar inseridas no corpo do documento, em posição que proporcione o melhor fluxo de leitura.

Estrutura e organização dos manuscritos

Cada trabalho deve apresentar os itens a seguir, de acordo com seu tipo. O trabalho não deve ser identificado e, portanto, não deve conter nome (s) de autor (es) ou quaisquer outros itens que o(s) identifique(m). Os dados de autoria devem ser reservados para a Página de Metadados e outros documentos acima mencionados.

Título no idioma principal do trabalho: deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; deve estar centralizado, em negrito e somente com a primeira letra da sentença em maiúscula; não deve ser iniciado com palavras como “efeito”, “influência” ou “avaliação”; não deve possuir subtítulo, sigla ou fórmula; não deve conter nome científico, exceto de espécies pouco conhecidas (neste caso, apresentar somente o nome binário); não deve ultrapassar o limite de 15 palavras; deve conter palavras que facilitem

a recuperação do trabalho por índices desenvolvidos por bases de dados que catalogam a literatura.

Título no segundo idioma do trabalho: estando o trabalho em português, o segundo título deve ser apresentado em inglês e vice-versa; deve ser inserido logo após o primeiro título e ser construído com as mesmas indicações atribuídas ao Título no idioma original do trabalho.

Resumo e Abstract: Devem conter no máximo 250 palavras cada um, ser elaborado com frases sucintas e em um só parágrafo; não devem repetir o título; cada frase deve ser uma informação; não devem apresentar citações; devem ser iniciados por uma breve frase introdutória, que justifique o trabalho, seguida pelos objetivos, objeto estudado, resultados mais importantes e conclusões; toda e qualquer sigla deve vir precedida da forma por extenso. Todo trabalho deve conter Resumo (em português) e Abstract (em inglês).

Palavras-chave e Keywords: Devem respeitar o limite mínimo de três e máximo de cinco, tanto em português quanto em inglês; devem estar grafadas em minúsculas, separadas por vírgulas, sem ponto final, com informações que permitam a compreensão e a indexação do trabalho; não são aceitas palavras que já constem no Título. Todo trabalho deve conter Palavras-chave (em português) e Keywords (em inglês).

Introdução: Explanação de forma clara e objetiva do problema investigado ou das hipóteses do trabalho; não deve ultrapassar duas páginas; deve abordar a pertinência e relevância do trabalho, além de conter apenas citação de referências específicas, visando estabelecer relação com trabalhos publicados sobre o assunto; no final da Introdução, como último parágrafo, deve-se apresentar a hipótese científica e os objetivos do estudo.

Material e Métodos: Devem apresentar a seguinte sequência lógica: descrição do local, período de realização da pesquisa, delineamento experimental e tratamentos, materiais e técnicas utilizadas, análise estatística utilizada, bem como as transformações dos dados; tratamentos e variáveis devem ser bem detalhados, porém deve-se evitar o uso de

abreviações ou siglas; técnicas e procedimentos de rotina devem ser apenas referenciados; as informações devem ser suficientes para que outros pesquisadores possam repetir o experimento.

Resultados e Discussão: Devem interpretar os resultados do trabalho de forma consistente, evitando comparações desnecessárias, isto é, as novas descobertas devem ser confrontadas com o conhecimento já obtido; comparações, quando pertinentes, devem ser discutidas e redigidas de forma a facilitar a compreensão do leitor; dados não apresentados não podem ser discutidos; tabelas e figuras não devem ser repetidas, no entanto, todos os seus dados devem ser discutidos; deve-se evitar o uso de nomes de variáveis e tratamentos abreviados. Resultados devem ser apresentados juntamente com a discussão.

Conclusões: Devem ser apresentadas em frases sucintas, sem comentários adicionais, com o verbo no presente do indicativo; não devem ser uma repetição dos resultados e devem responder aos objetivos expressos no trabalho; não podem consistir em um resumo dos resultados; devem apresentar as novas descobertas da pesquisa.

Citações no corpo do texto: Se o (s) autor (es) for (em) citado (s) entre parênteses, deve (m) estar (em) apenas com a letra inicial maiúscula, separadas por ponto e vírgula e em ordem cronológica.

- Exemplos: (Reis & Fernandes, 2009); mais de dois autores (Reis et al., 2009).

Quando o nome do autor estiver incluído na sentença (frase/oração), deve estar grafado com as iniciais maiúsculas e com a indicação da data.

- Exemplo: Reis & Fernandes (2009).

Para mais de dois autores, em citações dentro ou fora dos parênteses, deve-se apresentar o primeiro nome seguido da expressão “et al.”.

Toda a referência utilizada e citada no texto deverá, obrigatoriamente, estar na lista de referências, assim como, toda a lista de referências deve estar citada no texto.

Referências: Devem estar de acordo com as normas da ABNT NBR 6023:2002 (abaixo seguem alguns exemplos); devem respeitar a seguinte formatação: espaçamento simples,

separadas entre si por um espaço simples, com alinhamento justificado, listadas em ordem alfabética pelo sobrenome; devem contemplar toda e somente a bibliografia citada no texto; títulos incluídos nas referências devem estar grafados em itálico; o trabalho deve possuir, no máximo, **25 referências para artigo científico, 30 para artigo de revisão e 15 para comunicações**, sendo a maioria oriunda de **periódicos recentes (últimos cinco anos)**. **Exemplos:**

§ **Livro:**

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. *Análises químicas em plantas*. Piracicaba: ESALQ, 1974. 56 p.

§ **Capítulo de livro:**

WILLIAMS, E. S. Canine distemper. In: WILLIAMS, E. S.; BARKER, I. K. (Eds.). *Infectious diseases of wild mammals*. 3 ed. Ames: Iowa State University Press, 2001. p. 50-58.

§ **Periódicos:**

KOUTINAS, A. F.; POLIZOPOULOU, Z. S.; BAUMGAERTNER, W.; LEKKAS, S.; KONTOS, V. Relation of clinical signs to pathological changes in 19 cases of canine distemper encephalomyelitis. *Journal of Comparative Pathology*, v. 126, n. 1, p. 47-56, 2002.

§ **Teses e Dissertações (deve ser evitada a citação):**

GUEDES, E. M. S. *Atributos químicos e físicos de um Latossolo Amarelo argiloso e produção de soja em sistemas de manejo, no município de Paragominas/PA*. 2009. 75 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) -Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2009.

- **Boletins, trabalhos de congresso e outros eventos:** Não fazer citações.

§ **Publicações eletrônicas:**

SILVA, M. S.; SILVA, L. R. D.; SILVA, S. M.; SOBRINHO, R. S. D. *Qualidade de jaca dura (*Artocarpus heterophyllus*) minimamente processada armazenada em diferentes temperaturas*. SENGE-PB, 2009. Disponível em: <<http://www.sengepb.com.br/site/wp-content/uploads/2009/12/t023.pdf>>. Acesso: 5 maio 2010.

§ **Legislação:**

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar (declarações

relacionadas ao conteúdo de nutrientes), constantes do anexo desta Portaria. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 16 jan. 1998.

Tabelas: Devem estar numeradas com algarismos arábicos, apresentadas no decorrer do texto; as legendas das tabelas iniciam-se com a palavra **Tabela** seguida da numeração em algarismos arábicos, com ponto e em negrito, devem conter sempre um título autoexplicativo, claro e conciso; título no segundo idioma do trabalho: estando o trabalho em português, o segundo título deve ser apresentado em inglês e vice-versa; não devem ser utilizadas linhas verticais; não devem possuir letras sobrescritas em seus valores; linhas horizontais devem aparecer para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma ao final, na base da tabela; devem ser editadas em Microsoft Word® 2007 ou posterior; não devem ser importadas do Excel® ou Powerpoint®; elementos enviados no formato de imagem não serão aceitos e acarretarão atrasos na avaliação e na publicação do trabalho; cada valor presente na tabela deve ser digitado em células distintas, centralizado e alinhado; as tabelas devem ser dimensionadas da seguinte forma: largura de uma coluna (8 cm) ou de uma página (17 cm).

Figuras: São considerados figuras todos os gráficos, desenhos, mapas, diagramas e fotografias usados para ilustrar o texto; devem estar inseridas no corpo do texto, de modo que proporcionem melhor fluxo de leitura e compreensão do texto como um todo; caso haja texto dentro da figura, este deve acompanhar o idioma do trabalho e estar legível; as legendas das figuras iniciam-se com a palavra **Figura** seguida da numeração em algarismos arábicos, com ponto e em negrito, e posteriormente o respectivo título; toda figura deve ser citada no texto, apresentar legenda e fonte de origem; toda legenda deve indicar à que figura se refere; figuras não-originais (de outro autor ou trabalho) devem conter, após o título, a fonte de origem; devem ser dimensionadas da seguinte forma: largura de uma coluna (8 cm) ou de uma página 17 cm.; para fotos e mapas, coloridos ou não, deve-se utilizar resolução de 150 a 300 dpi; não serão aceitas figuras que repitam as informações das tabelas; fotos coloridas, quando imprescindíveis a critério da Equipe Editorial, serão, também, aceitas; não devem ser utilizadas linhas de borda na área de plotagem e nem na área do gráfico (figura); nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas, seguidas das unidades entre parênteses;

título no segundo idioma do trabalho: estando o trabalho em português, o segundo título deve ser apresentado em inglês e vice-versa.

Uso de unidades: Nos exemplos seguintes, o formato correto é o que se encontra no lado direito da igualdade: 10 horas = 10 h; 32 minutos = 32 min; 5 l (litros) = 5 L; 45 ml = 45 mL; 1/s = L s⁻¹; 27°C = 27 °C; 0,14 m³/min/m = 0,14 m³ min⁻¹m⁻¹; 100 g de peso/ave = 100 g de peso por ave; g por planta = g/planta; 2 toneladas = 2 t; mm/dia = mm d⁻¹; 2x3 = 2 x 3 (com espaçamento); 45,2 - 61,5 = 45,2-61,5 (sem espaçamento). A unidade de % deve estar junto ao número (Ex.: 45%); quando, no texto, existirem valores numéricos seguidos, deve-se colocar a unidade somente no último valor (Ex.: 20 e 40 m; 56,0, 82,5 e 90,2%); quando for pertinente, deve-se **deixar os valores numéricos com, no máximo, duas casas decimais**; as grandezas devem ser expressas no SI (Sistema Internacional) e a terminologia científica deve seguir as convenções internacionais de cada área em questão.

Siglas e abreviações: Se a sigla for lida como uma palavra e contiver mais de três letras, apenas a letra inicial deve ser grafada em maiúscula; nos demais casos (siglas até três letras e as que são lidas letra a letra, sem formar palavra) todas as letras devem ser grafadas em maiúsculas; o nome por extenso de uma instituição deve ter apenas a primeira letra de cada nome em maiúscula; a abreviação do título da *Revista de Ciências Agrárias* é Rev. Ciênc. Agrár. e deve ser utilizada em bibliografias, notas de rodapé, referências e legendas bibliográficas.

Termos em latim: Devem-se apresentar os termos em latim em itálico, exceto para o termo “et al.”

Termos estrangeiros: Devem ser mantidos em destaque somente termos específicos, ressaltados no manuscrito; palavras incorporadas à língua portuguesa não devem ser destacadas (Ex.: marketing, e-mail, software etc.).

Após conferir a formatação e ter preparado os arquivos de acordo com as recomendações acima, siga para a etapa de Submissão On-line (veja abaixo).