



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

MARIA RAYRA SILVA DE ARAÚJO

**Efeito de diferentes concentrações de reguladores de crescimento
no estabelecimento *in vitro* de *Manihot esculenta* Crantz variedade
BRS Kiriris**

**SANTARÉM, PARÁ
Setembro de 2018**



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

MARIA RAYRA SILVA DE ARAÚJO

**Efeito de diferentes concentrações de reguladores de crescimento
no estabelecimento *in vitro* de *Manihot esculenta* Crantz variedade
BRS Kiriris**

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

Orientada: Maria Rayra Silva de Araújo

Orientador: Prof.^a Dr.^a Eliandra de Freitas Sia

**SANTARÉM, PARÁ
Setembro de 2018**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA

A663e Araújo, Maria Rayra Silva de

Efeito de diferentes balanços de reguladores de crescimento no cultivo in vitro de *Manihot esculenta* Crantz variedade BRS Kiriris./ Maria Rayra Silva de Araújo. – Santarém, 2018.

36 p.: il.

Inclui bibliografias.

Orientadora: Eliandra de Freitas Sai

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Florestas, Curso de Bacharelado em Biotecnologia.

1. Mandioca. 2. Cultura de tecidos. 3. Manivas. I. Sia, Eliandra de Freitas, *orient.*
II. Título.

CDD: 23 ed. 633.682

MARIA RAYRA SILVA DE ARAÚJO

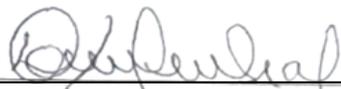
Efeito de diferentes balanços de reguladores de crescimento no cultivo *in vitro* de *Manihot esculenta* Crantz variedade BRS Kiriris

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

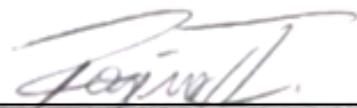
Conceito:

Data de Aprovação: 06/09/2018

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dra. Eliandra de Freitas Sia – Orientador (a)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ – UFOPA



Prof. Dr. Rogério Rangel Rodrigues – 1º Examinador
INSTITUTO FEDERAL DO PARÁ – IFPA



Prof. Dr. Carlos Ivan Aguilar Vildoso – 2º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ – UFOPA

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me concedido saúde e força para superar as dificuldades durante a caminhada não me deixando desanimar.

À minha família, meus pais Cione e Procópio, avós Roseni e Cícero e minhas irmãs Rayna e Rayana, que são meu alicerce e estiveram sempre comigo me apoiando quando precisei, pelo amor e incentivo incondicional. Amo vocês!

Ao meu amigo e companheiro Adriano, pelo apoio integral, paciência e amor durante o longo percurso da graduação.

Ao Laboratório de Micropropagação de Plantas *in vitro* da UFOPA por possibilitar o desenvolvimento deste trabalho.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Eliandra de Freitas Sia, pela oportunidade, disponibilidade e conhecimentos compartilhados.

A Tanara Dalla Costa, pela atenção e em ter aceitado dedicar seu tempo me ensinando os processos do trabalho.

Ao professor Dr. Rogério Rangel Rodrigues, pela atenção e ajuda com a análise estatística.

As minhas amigas de graduação: Ana Caroline e Milla Karolina, que me ajudaram no que eu precisei, me incentivaram e pelas experiências trocadas.

A todos que contribuíram direta e indiretamente para a conclusão desse trabalho.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Altura média das plântulas após 30 dias de cultivo <i>in vitro</i>	23
Figura 2 - Número de folhas vivas das plântulas após 30 dias de cultivo <i>in vitro</i>	24
Figura 3 - Número de raízes das plântulas após 30 dias de cultivo <i>in vitro</i>	25
Figura 4 - Comprimento de raízes das plântulas após 30 dias de cultivo <i>in vitro</i>	26
Figura 5- Estabelecimento <i>in vitro</i> de mandioca variedade BRS Kiriris sob diferentes balanços de reguladores de crescimento vegetal.....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resumo da análise de variância para altura da plântula (ALT - cm), número de folhas verdes (NFV), número de folhas mortas (NFM), número de raízes (NR) e comprimento das raízes (CR - cm), indicando os coeficientes de variação (CV), graus de liberdade (GL) e os quadrados médios das variáveis (QM).....	22
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DA LITERATURA	12
2.1 CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS DA MANDIOCA (<i>Manihot esculenta</i> Crantz).....	12
2.2 IMPORTÂNCIA DA MANDIOCA NO BRASIL NO MUNDO E SUA UTILIZAÇÃO	13
2.3 MELHORAMENTO GENÉTICO	15
2.4 CULTURA DE TECIDOS.....	16
2.5 REGULADORES DE CRESCIMENTO VEGETAL.....	16
2.6 VARIEDADE BRS KIRIRIS.....	17
3 OBJETIVOS	19
3.1 OBJETIVO GERAL	19
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4. MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL E PLANTIO DAS MANIVAS	20
4.2 OBTENÇÃO E COLETA DOS EXPLANTES	Erro! Indicador não definido.
4.3 DESINFESTAÇÃO E ESTABELECIMENTO <i>IN VITRO</i>	200
4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
6. CONCLUSÃO	28
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

RESUMO

A espécie *Manihot esculenta* Crantz possui uma ampla relevância econômica mundial e nacional pelo seu importante valor na alimentação humana, animal e na indústria. A propagação vegetativa desta espécie manifesta alguns obstáculos como doenças, e a micropropagação surge como uma alternativa viável frente aos métodos tradicionais de propagação. O objetivo nesta pesquisa foi avaliar a ação de diferentes concentrações dos reguladores de crescimento 6- benzilaminopurina (BAP), ácido naftalenoacético (ANA) e ácido giberélico (AG₃) no desenvolvimento *in vitro* de *Manihot esculenta* Crantz variedade BRS Kiriris. O material utilizado como fonte de explante foram ápices caulinares da variedade Kiriris. Os explantes foram introduzidos em frascos contendo 5 ml do meio de cultura Murashige e Skoog suplementado com diferentes concentrações dos reguladores. Foram avaliados quatro meios de cultura: controle sem reguladores de crescimento, constituindo o tratamento 1; 0,01 mg/L de ácido naftalenoacético – ANA + 0,02 mg/L de benzilaminopurina – BAP + 0,025 mg/L de ácido giberélico - AG₃, constituindo o tratamento 2; 0,02 mg/L de ANA + 0,04 mg/L de BAP + 0,05 mg/L de AG₃, constituindo o tratamento 3 (correspondente ao meio utilizado no protocolo da EMBRAPA) e 0,04 mg/L de ANA + 0,08 mg/L de BAP + 0,10 mg/L de AG₃ constituindo o tratamento 4. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com 4 tratamentos, contendo 5 repetições, cada repetição consistindo de 5 tubos, totalizando 25 explantes por tratamento e 100 explantes para o experimento, foram avaliadas após 30 dias de cultivo *in vitro* as variáveis altura das plântulas (cm), número de folhas verdes, número de folhas mortas, número de raízes e comprimento das raízes (cm). Dentre os tratamentos, o que apresentou melhor resultado para as variáveis foi o tratamento 2 (0,01 mg/L de ANA; 0,02 mg/L de BAP e 0,025 mg/L de AG₃). Portanto, a adição de reguladores de crescimento ao meio de cultura são promissores para o estabelecimento *in vitro* da variedade BRS Kiriris. A combinação de 0,01 mg/L de ANA + 0,02 mg/L BAP + 0,025 mg /L de AG₃ apresentou os melhores resultados para o estabelecimento *in vitro* da variedade BRS Kiriris.

Palavras-chave: Mandioca, Manivas, Fitorreguladores, Cultura de tecidos.

ABSTRACT

The *Manihot esculenta* Crantz species has wide global and national economic relevance for its important value in human, animal and industry. The vegetative propagation of this species manifests some obstacles as diseases, and micropropagation appears as a viable alternative to traditional methods of propagation. The objective of this research was to evaluate the action of different concentrations of the growth regulators 6-benzylaminopurine (BAP), naphthaleneacetic acid (ANA) and gibberellic acid (AG3) in the in vitro development of *Manihot esculenta* Crantz variety BRS Kiriris. The material used as explant source were Kiriris caulin apices. Explants were introduced into flasks containing 5 ml of the Murashige and Skoog culture medium supplemented with different concentrations of the regulators. Four culture media were evaluated: control without growth regulators, constituting treatment 1; 0.01 mg / L of naphthaleneacetic acid - ANA + 0.02 mg / L of benzylaminopurine - BAP + 0.025 mg / L of gibberellic acid - AG3, constituting treatment 2; 0.02 mg / L of ANA + 0.04 mg / L of BAP + 0.05 mg / L of AG3, constituting the treatment 3 (corresponding to the medium used in the protocol of EMBRAPA - SOUZA et al., 2013) and 0, 4 mg / L of ANA + 0.08 mg / L of BAP + 0.10 mg / L of AG3 constituting the treatment 4. The experimental design was a completely randomized (DIC) with 4 treatments, containing 5 replicates, each replicate consisting of 5 tubes, totaling 25 explants per treatment and 100 explants for the experiment, were evaluated after 30 days of in vitro cultivation the variables seedling height (cm), number of green leaves, number of dead leaves, number of roots and root length (cm). Among the treatments, the best treatment for the variables was treatment 2 (0.01 mg / L ANA, 0.02 mg / L BAP and 0.025 mg / L AG3). Therefore, the addition of growth regulators to the culture medium is promising for the in vitro establishment of the BRS Kiriris variety. The combination of 0.01 mg / L ANA + 0.02 mg / L BAP + 0.025 mg / L AG3 presented the best results for the in vitro establishment of the BRI Kiriris variety.

KeyWords: Cassava, Cuffs, Plant growth regulators, Tissue culture.

1. INTRODUÇÃO

A mandioca é uma dicotiledônea e pertence à família Euphorbiaceae, considerada a espécie mais conhecida do gênero *Manihot* (BARROSO *et al.*, 1998). Esta família possui aproximadamente 290 gêneros e cerca de 7.500 espécies divididas ao longo de todas as regiões tropicais e subtropicais, com maior relevância na América e África (BARROSO *et al.*, 1998). A mandioca detém grande destaque tanto no setor econômico quanto no social, por contribuir para a sobrevivência de uma parte expressiva da população de poder aquisitivo inferior, fornecendo renda para a agricultura familiar e na produção de alimento (SOUZA, 2009).

Dessa produção são gerados muitos produtos, e dentre eles a farinha é obtida das raízes a partir de processos industriais adequados e beneficiamento; a fécula é o derivado amiláceo extraído também das raízes, não é fermentada e passa por processos de decantação, centrifugação e outras técnicas até sua obtenção; e a tapioca produto em forma de grânulos irregulares ou esféricos (BRASIL, 2011).

A mandioca é propagada vegetativamente e pode acarretar na disseminação de doenças, como as sistêmicas que são aquelas que afetam uma vasta sequência de órgãos ou tecidos da planta (PIZA & PINHO, 2002). Dentre elas a podridão radicular que causa grande impacto nos setores econômico e social a grandes países produtores da cultura, como a África (ONYEKA *et al.*, 2005) e o Brasil (SERRA *et al.*, 2009), ocasionando perdas significativas na produtividade da mandioca. São variadas as espécies de fitopatógenos em consórcio à podridão radicular, sobretudo *Phytophthora drechsleri* Tucker (LIMA *et al.*, 1993; MUNIZ *et al.*, 2006) e *Fusarium solani* (BANDYOPADHYAY *et al.*, 2006).

Na tentativa de resolver esse problema, tornou-se grande o cultivo de mandioca da variedade BRS Kiriris, produto do Programa de Melhoramento Genético de Mandioca (PMG-M) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), devido sua versatilidade, tolerância à podridão da raiz e a boa produtividade (EMBRAPA, 2018).

Muitas tecnologias dentro da cultura de tecidos vêm sendo utilizadas no progresso da produção e conservação da mandioca, a exemplo da micropropagação, técnica que permite o crescimento *in vitro* de plantas a partir de alguma parte vegetal, em meio de cultura com condições nutricionais adequadas (DEB & IMCHEN, 2010), praticadas em condições assépticas e dependente de protocolos capazes de gerar bom desenvolvimento *in vitro* e na fase de aclimatização (BAIRU *et al.*, 2011; CANÇADO *et al.*, 2012).

De acordo com Caldas *et al.* (1998), no processo de micropropagação, os elementos presentes no meio de cultura são importantes para a definição de um protocolo eficaz de produção de plantas *in vitro*. Dentro destes componentes, as citocininas, auxinas e giberelinas são as classes de reguladores de crescimento de maior aplicação no cultivo *in vitro*, responsáveis pela diferenciação e divisão das células vegetais, crescimento do caule e da raiz, e estimular o alongamento e divisão das células vegetais respectivamente (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Sendo assim, na tentativa de minimizar os impactos da podridão radicular da mandioca na região Oeste do Pará, o uso da variedade Kiriris micropropagada, resistente ao patógeno, com boa produtividade e rápido crescimento, permitirá contribuir com os produtores da região através do fornecimento de material de propagação com qualidade genética e fitossanitária obtida por meio deste trabalho. Portanto, o objetivo nesta pesquisa foi avaliar a ação de diferentes concentrações dos reguladores de crescimento 6-benzilaminopurina (BAP), ácido naftaleno-acético (ANA) e ácido giberélico (AG₃) no estabelecimento *in vitro* de *Manihot esculenta* Crantz variedade BRS Kiriris.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS DA MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz)

A mandioca pertence à classe das dicotiledôneas, Magnoliopsida, subclasse Archiclamydeae, família Euphorbiaceae, ao gênero *Manihot* e à espécie *Manihot esculenta* Crantz (ORLANDIN; LIMA, 2014).

Aproximadamente 98 espécies já foram identificadas do gênero *Manihot* (FIALHO & VIEIRA, 2011), dentre essas espécies, a *Manihot esculenta* Crantz é a única cultivada comercialmente para produção de raízes utilizadas na alimentação, os produtos de maior importância para o mercado são a farinha, fécula, doces e salgados (FOTSO *et al.*, 2014; FIALHO & VIEIRA, 2011).

Natural da América com centro de origem na América do Sul, a mandioca possui abundante diversificação na África, Ásia e América (LARA *et al.*, 2008). Para Filgueiras & Homma (2016), os primeiros vestígios relacionados ao cultivo de mandioca se deram a milhares de anos, localizados na região Amazônica, considerada um dos patrimônios mais importantes cedidos pelo povo indígena da região.

As folhas dessa família são caducifólias, simples, lobulares (três a nove lóbulos), apresenta coloração que vai do roxo ao verde escuro, os níveis proteicos variam de 18 a 22% e possuem diversas formas e tamanhos (DOMÍNGUEZ *et al.*, 1984). De acordo com Ceballos (2002), a planta possui uma característica peculiar, que é a produção de uma secreção leitosa quando a planta é lesionada, o látex.

O pecíolo exibe comprimento variável entre 5 a 30 cm e numerosas inclinações em relação à haste, suas formas mais frequentes são inclinadas para cima, inclinada para baixo, na horizontal e irregular, manifestando variadas tonalidades, desde a verde-amarela, verde, vermelha até a coloração roxa (RONDÓN, 1984).

Nassar (2000) descreve a mandioca como possuidora de caules subarborescente, ereto, com nós e gemas que viabilizam a propagação vegetativa da planta, que podem ser dicotômico, tricotômico ou tetracotômico, podendo apresentar ramificações. O talo que é uma estrutura de sustentação, para as espécies de mandioca é responsável pela altura e largura que pode se diferenciar em número, forma e ângulo de ramificação, e sua coloração é um atributo que pode variar entre os diversos genótipos e a idade da planta (DOMÍNGUEZ *et al.*, 1984; CARVALHO & FUKUDA, 2006).

Com relação ao sistema radicular, Carvalho & Fukuda (2006) relatam que a mandioca apresenta raízes tuberosas, ricas em fécula, com tamanhos e formas variadas

podendo ser cilíndricas, cônicas e globosas, seu número também é diversificado, em média de cinco a doze dependendo da cultivar, sua polpa pode ser branca, amarelo, creme ou rosada.

Carvalho & Fukuda (2006) discutem ainda acerca da altura da planta, que pode variar de um a dois metros podendo algumas cultivares chegarem a quatro metros, hábito de ramificação, porte da planta e distância entre as cicatrizes foliares deixadas pelas bases das folhas, certificando que são características dependentes da variedade.

Segundo Martin (1976), é uma espécie monóica que exhibe flores femininas (pistiladas) e masculinas (estaminadas) na mesma inflorescência, que pode ser do tipo rácomo ou panícula. Oriunda da América do Sul, a cultivar possui ciclo bianual e sua colheita é aos 10-11 meses de idade (FIALHO & VIEIRA, 2011). É um arbusto perene (FOTSO *et al.*, 2014), lenhoso, seu fruto é trilocado e deiscente, a polinização pode ser feita manualmente, de forma controlada, ou ainda por fecundação cruzada (MARTIN, 1976).

A mandioca é considerada uma planta com alta heterozigosidade, devido a resistente depressão endogâmica com a autofecundação e a facilidade da sua propagação vegetativa. A reprodução sexual da mandioca, o estudo da inflorescência, forma e função das flores, produção de sementes e aspectos da polinização são de suma importância na classificação da espécie do gênero *Manihot* (KAWANO *et al.*, 1978).

2.2 IMPORTÂNCIA DA MANDIOCA NO BRASIL, NO MUNDO E SUA UTILIZAÇÃO.

No ano de 2015 de acordo com informações cedidas pela FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), a Nigéria já era indicada como a maior fornecedora de mandioca, seguida pela Tailândia e Indonésia, o Brasil ocupou a quarta posição com aproximadamente 21,4 milhões de toneladas produzidas (PROENÇA *et al.*, 2017)

Para o ano de 2016, algumas modificações foram observadas, em milhões de toneladas: a Nigéria se manteve na primeira colocação com cerca de 57,1 milhões de toneladas, seguida pela Tailândia com aproximadamente 31,1 milhões de toneladas, já o Brasil subiu para o terceiro lugar com 23,71 milhões de toneladas, deixando a Indonésia para a quarta posição com cerca de 20,7 milhões de toneladas. Um destaque negativo foi à Índia, sua produção foi de aproximadamente 4.554.000 milhões de toneladas, mostrando um declínio quando comparado há anos anteriores (FAO, 2018; IBGE, 2018).

No Brasil, o maior produtor é o estado do Pará, no ano de 2015 sua produção chegou a 4.695.735 milhões de toneladas, em seguida vem o estado do Paraná com 4.312.946

milhões de toneladas, e Bahia 2.098.575 milhões de toneladas. O município de Santarém é considerado um dos principais produtores de mandioca do Pará, com uma área colhida de 21.770 hectares, contudo, apresenta baixo rendimento quando comparado com outras regiões, como por exemplo, os municípios de Portel e Acará com 9.400 e 18.350 hectares de área colhida, respectivamente, podendo a diferença de toneladas colhidas chegarem a 42,5 toneladas entre os municípios de Portel e Santarém. Assim, Santarém se posiciona como terceiro maior produtor de mandioca do estado (IBGE, 2018).

O setor industrial ganha um habilidoso parceiro que é a agricultura familiar, no abastecimento do mercado, que por sua vez assegura a compra e venda da produção, confirmando a perpetuidade dessa atividade e garantindo benefícios recíprocos entre os setores (SILVA *et al.*, 2018).

Santana *et al.* (2017) afirma que a mandioca possui relevante valor cultural em seu processamento, repassado para gerações seguintes por produtores, afirmando valores contidos na cultura brasileira, recuperando técnicas artesanais e gerando empregos e renda para as famílias rurais. Mostrando ainda, sua destreza comercial no mercado interno e externo dirigido para os mais variados fins, como produção de celulose, etanol, cerveja, setor alimentício e indústria farmacêutica (SANCHES *et al.*, 2017).

No Brasil as raízes da mandioca são empregadas no preparo de farinhas de mandioca e tapioca, polvilhos doce ou azedo, que são utilizados na preparação de comidas típicas, na região norte, as folhas da cultivar são amplamente usadas na alimentação, pois possui níveis consideráveis de vitaminas do complexo B e sais de ferro, fósforo e cálcio (SALLA, 2008). A fécula que é o amido extraído da mandioca em forma de farinha é considerada seu componente mais importante, obtida das raízes frescas cujo teor varia de 25 a 35%. No Brasil, por exemplo, mais da metade da produção de amido de mandioca é usado na sua forma *in natura*, por indústrias de panificação, biscoitos, iogurtes, chocolates, bombons e etc (CEREDA *et al.*, 2001).

Para a fabricação dos produtos, as variedades de mandioca mantidas por agricultores tradicionais são agrupadas em cultivares mansas (de mesa) e cultivares bravas. As variedades mansas podem ser consumidas sem a necessidade de maiores processos e não possuem sabor amargo, por conterem baixas concentrações de compostos cianogênicos. As variedades bravas possuem uma taxa de glicosídeos linamarina e lotaustralina maior que 25 mg de HCN/kg de polpa fresca das raízes, com maior capacidade de gerar cianeto e uma característica marcante é o sabor amargo (CHISTÉ *et al.*, 2010). Por tanto, esses parâmetros

são importantes, pois indicam que o beneficiamento das raízes está relacionado à abundância de compostos cianogênicos (HCN) presente em cada cultivar.

2.3 MELHORAMENTO GENÉTICO

A mandioca possui grande diversidade genética com aproximadamente 4.132 acessos listados, resultantes da predisposição a polinização cruzada entre cultivares, além de sua heterozigidade e deiscência precipitada dos frutos. Essa heterogeneidade permite o aumento de variedades de mandioca a distintos modelos de cultivo, que demandam a constante criação de novas cultivares, em virtude da extensa faixa de plantações de mandioca, a exigência do comércio e aos problemas cotidianos associados a doenças e pragas (FUKUDA *et al.* (2005). Fukuda *et al.*, (2005), salienta a respeito da grande necessidade do mercado por variedades, que se integrem a ambientes e formas de utilização diferente.

Silva *et al.* (2002) destaca o fato de a mandioca ser uma cultura perene e muito rústica permite que ela seja conservada como recurso genético, especificamente dentro das variedades crioulas estabelecendo um banco de germoplasma. Essa conservação pode ocorrer no campo, o qual pode se tornar uma prática cara pela ocorrência de perdas. Em contra partida, o material estará disponível se preciso, em laboratório, considerada a técnica mais barata e viável, por conseguir concentrar uma grande quantidade de indivíduos em um pequeno espaço, ou por armazenagem de sementes, que não é muito utilizada a não ser em casos de espécies que não enraízam por estacas e apresentam dificuldade em se manterem *in vitro* (FUKUDA; COSTA; SILVA, 2005).

O propósito dos programas de melhoramento é desenvolver cultivares superiores as existentes, principalmente as características de interesse biológico e econômico. Com o avanço das técnicas de melhoramento da mandioca, a utilização desses processos por pequenos e médios agricultores tem evoluído, auxiliando em estudos de impactos (FUKUDA, 1996).

No Brasil, encontram-se grandes centros de germoplasma responsáveis por uma vasta parte dessa variabilidade genética, tais como: o CENARGEN (da divisão Recursos Genéticos e Biotecnologia da Embrapa), a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), o Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura (CNPMPF, da Embrapa), e o Instituto Agronômico de Campinas (IAC) (NUNES, 2013).

Através das informações genéticas e morfológicas obtidas a partir de metodologias específicas, é possível indicar possíveis causas da sua variabilidade, um dos

desafios da cultura de mandioca é a perda da diversidade podendo influenciar no estoque genético da cultura, para tanto, é indispensável estudos sobre a escolha da variedade utilizada, visto que, a agricultura demanda cultivares de alta produção, podendo acometer abertamente o potencial de risco de erosão genética (BROWN, 2010; PENET *et al.*, 2016).

2.4 CULTURA DE TECIDOS

A cultura de tecidos abrange um conjunto de técnicas *in vitro* que permitem a multiplicação e crescimento de células, tecidos, órgãos ou partes de órgãos de uma planta, em meio de cultura apropriada, sob condições assépticas e ambientais controladas com determinadas condições de luminosidade e temperatura (CARVALHO, 2011).

Dentre as técnicas de cultura de tecidos destaca-se a micropropagação, que permite uma rápida multiplicação das plantas em larga escala, viabilizando a produção de grande quantidade de mudas idênticas à planta matriz, durante todo o ano (ULISSES *et al.*, 2010; ALMEIDA *et al.*, 2015). Neste sentido, a micropropagação surge como uma alternativa mais eficiente frente aos métodos tradicionais de propagação (SILVA, *et al.*, 2017).

Butt *et al.* (2015) destacam que a micropropagação consegue uma rápida multiplicação de plantas, gerando altos lucros, plantas de alta qualidade e livres de doenças. Outros benefícios obtidos pela micropropagação são a rápida propagação de clones em um espaço pequeno de tempo, conservação de germoplasma e produção de metabólitos secundários (AKIN-IDOWU *et al.*, 2009; GARCIA-GONZALES, 2010; MORAIS *et al.*, 2012).

Leitzke *et al.* (2010) cita alguns fatores externos cruciais no sucesso da micropropagação *in vitro*, como umidade, temperatura, intensidade luminosa, fotoperíodo e fatores inerentes ao crescimento e desenvolvimento da planta, dependente das condições nutricionais do meio de cultura e a aplicação de reguladores de crescimento. Sendo assim, para o êxito do cultivo *in vitro*, se faz necessário à adequação das condições de cultivo e do meio nutritivo à cultura de interesse.

2.5 REGULADORES DE CRESCIMENTO VEGETAL

As citocininas, as auxinas e as giberelinas são as classes de reguladores de crescimento de maior aplicação no cultivo *in vitro*. Seus efeitos variam em função de fatores ambientais, da concentração, do número de aplicações, da época da aplicação, do estágio de crescimento da planta e da espécie a ser tratada (KADHIMI *et al.*, 2014).

Com relação aos reguladores existentes no mercado, a citocinina 6-benzilaminopurina (BAP) é o regulador que exhibe os melhores resultados, indicado na reprodução de parte aérea e indução de gemas adventícias *in vitro*, quebra da dormência apical dos brotos e aumento da taxa de multiplicação, ocorrendo intensa brotação por meio dos meristemas laterais. Sua concentração é variável, em função do explante e da espécie utilizada (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

O ácido naftalenoacético (ANA), uma auxina sintética, atua estimulando e acelerando o enraizamento das estacas, expansão dos tecidos e divisão celular, na formação de calos e na embriogênese dos cultivos em suspensão (CENCI & CHITARRA, 1994). O movimento das auxinas é considerado lento e seu transporte pelas células do parênquima é apolar, sempre em direção à base nos caules e folhas e nas raízes em direção às extremidades (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 1996).

Dentro da classe das giberelinas o ácido giberélico (AG_3) é um dos mais empregados no manejo de crescimento vegetal, por conferir estímulos na expansão e divisão celular, utilizado em conjunto com outros reguladores de crescimento, esse regulador causa alongamentos nos internódios e diferenças consideráveis na altura da planta (WEISS & ORI, 2007); MORGANTE & LOMBARDI, 2004).

Em vista disso, os fitorreguladores são importantes para as respostas fisiológicas da planta, tendo em vista que a formação de tecidos e órgãos depende da presença ou interação entre eles (HAWERROTH *et al.*, 2016). Dessa forma, justifica-se estudos sobre as funções desempenhadas por esses reguladores, tempo e doses de aplicação já que pequenas quantidades podem ser eficientes, enquanto concentrações elevadas podem apresentar um efeito contrário, inibindo o crescimento vegetal.

2.6 VARIEDADE BRS KIRIRIS

A variedade BRS Kiriris é um dos produtos do Programa de Melhoramento Genético de Mandioca (PMG-M) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), dentre as características dessa variedade de mandioca a mais relevante é a resistência à podridão radicular, e algumas doenças que afetam a parte aérea como: mancha parda, mancha branca, queima das folhas e antracnose (EMBRAPA, 2017).

Com o crescente interesse industrial pela mandioca nas regiões de Jequié e Santo Antônio de Jesus, no estado da Bahia, a BRS Kiriris tem sido aproveitada por agricultores com excelente produtividade em vários anos de cultivo (EMBRAPA, 2017). Segundo a Embrapa (2017), a Kiriris tem produtividade total de raízes frescas (PTR) em $30,25 \text{ t.ha}^{-1}$, a

produtividade média de amido (P-AMD) totalizando 9,05 t.ha⁻¹ e o teor de matéria seca nas raízes foi de 34,56%, tornando-se superior a outras variedades da Embrapa.

O porte reto apresentando ramificações de aproximadamente 1,50 metros de altura favorecendo o plantio mecanizado, maior concentração de cultivares e cobertura do solo, a simplicidade na colheita beneficiando o arranque e despencamento das raízes, e principalmente a resistência à podridão radicular, caracterizam outros benefícios que a variedade Kiriris oferece (EMBRAPA, 2017).

Para os atributos agrônômicos da variedade, a Embrapa (2017) avaliou alguns ensaios experimentais e o recomendado é que a produtividade de raízes frescas tenha oscilação de 17,00 a 48,96 t.ha⁻¹, a produtividade de amido entre 4,72 a 15,37 t.ha⁻¹, o teor de matéria seca nas raízes com variação de 31,48% a 37,16%, e a altura da cultivar variando de 1,63 a 2,97 cm.

A variedade Kiriris possui características únicas nas raízes e na parte aérea. As raízes dispõem forma cônica ou cilíndrica, a película exprime cor marrom-escura, o córtex e a polpa apresentam coloração branca. A parte aérea exhibe broto jovem com coloração verde-claro, os ramos possuem cor verde, o pecíolo manifesta cor vermelha, o lóbulo central possui forma lanceolada e o caule expressa coloração marrom-claro (EMBRAPA, 2017).

Assim, o uso da variedade BRS Kiriris tende a aumentar na região Oeste do Pará, devido a sua versatilidade e por ser uma das mandiocas mais produtiva, tolerante a podridão radicular e outras doenças que acometem a mandioca, gerando maior renda e benefícios aos produtores da região.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a ação de diferentes concentrações dos reguladores de crescimento 6-benzilaminopurina (BAP), ácido naftalenoacético (ANA) e ácido giberélico (AG₃), no estabelecimento *in vitro* de *Manihot esculenta* Crantz variedade BRS Kiriris.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a melhor concentração dos reguladores de crescimento BAP, ANA e AG₃ para o estabelecimento *in vitro*.
- Avaliar o desenvolvimento *in vitro* dos explantes, por tratamento, através das variáveis: altura das plântulas, número de folhas vivas, número de raízes e comprimento das raízes.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL E PLANTIO DAS MANIVAS

O experimento foi realizado no Laboratório de Micropropagação de Plantas *in vitro*, da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA) em parceria com o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará (IFPA).

Foram selecionadas plantas saudáveis e vigorosas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) variedade BRS Kiriris, com idade entre 8 e 10 meses, provenientes de áreas de produtores rurais do município de Boa Esperança, Santarém-PA.

As manivas foram cortadas com auxílio de uma serra manual em estacas com 15 a 20 cm de comprimento, com corte em ângulo reto (transversal à maniva), para uma formação mais uniforme das raízes. As manivas foram plantadas em bandejas plásticas contendo fibra de coco e substrato comercial, na proporção 1:1. Após o plantio, as manivas foram levadas para viveiro com telado de 50% e irrigação automatizada (duas vezes por dia por 5 minutos), onde permaneceram por aproximadamente 21 dias para obtenção de ápices caulinares.

4.2 OBTENÇÃO E COLETA DOS EXPLANTES

Decorridos os 21 dias de plantio das manivas, as brotações apresentaram ápices caulinares adequados para o cultivo *in vitro*, sendo utilizados como explantes. Os brotos foram cortados com o auxílio de uma lâmina de bisturi em tamanho de 1,5 a 2,0 cm, colocados em um béquer pequeno contendo água destilada, e identificado com o nome da variedade. Em seguida, foram retiradas as folhas maiores, retornando os brotos para o béquer com água e levadas imediatamente para o laboratório.

4.3 DESINFESTAÇÃO E ESTABELECIMENTO *IN VITRO*

Em capela de fluxo laminar, os ápices caulinares foram colocados em gaze e foram imersos em álcool a 50% durante 1 minuto, lavadas em água deionizada autoclavada por 15 segundos e posteriormente em solução de hipoclorito de sódio a 0,25% (v/v) (Qboa®) por 3 minutos. Em seguida, foram submergidos por três vezes consecutivas (aproximadamente 15 segundos) em água deionizada autoclavada, substituindo a água após cada imersão, a fim de eliminar os possíveis resíduos de cloro nos explantes (SOUZA *et al.*, 2013).

No microscópio estereoscópico, sob aumento de 10x e 40x, ocorreu o desbaste dos ápices caulinares onde foram eliminadas gradativamente as folhas e estípulas com auxílio de pinça e bisturi, evitando provocar danos ao tecido, até que fosse possível observar o ápice caulinar, os ápices caulinares foram seccionados em aproximadamente 0,3 a 0,5 cm.

Após a assepsia e o desbaste, os ápices caulinares foram introduzidos em tubos de ensaio (30X150 mm) contendo 5 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962 - Sigma-aldrich) previamente autoclavado a 121°C e pressão de 1 atm, durante 20 minutos, o qual foi suplementado com 20 g/L de sacarose (Sigma-aldrich), 2 g/L de Phytigel (Sigma-aldrich), e os respectivos tratamentos: um controle sem reguladores de crescimento, constituindo o tratamento 1; 0,01 mg/L de ácido naftalenoacético – ANA + 0,02 mg/L de benzilaminopurina – BAP + 0,025 mg/L de ácido giberélico - AG₃, constituindo o tratamento 2; 0,02 mg/L de ANA + 0,04 mg/L de BAP + 0,05 mg/L de AG₃, constituindo o tratamento 3 (correspondente ao meio utilizado no protocolo da EMBRAPA – SOUZA *et al.*, 2013) e 0,04 mg/L de ANA + 0,08 mg/L de BAP + 0,10 mg/L de AG₃, constituindo o tratamento 4. O pH do meio foi ajustado para $5,7 \pm 0,1$.

Os tubos de ensaio foram cobertos por gaze durante os 10 primeiros dias do estabelecimento, para reduzir a luminosidade e permitir um melhor desenvolvimento dos explantes, após isso as gazes foram retiradas. Os frascos inoculados foram mantidos em sala de crescimento iluminadas com lâmpadas fluorescentes brancas frias, com densidade de fluxo de fótons de $30 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de $27^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ (SOUZA *et al.*, 2013).

Após o 30º dia de cultivo *in vitro*, foi realizada a avaliação final do experimento, quando foram analisadas variáveis alturas das plântulas (cm), número de folhas verdes, número de mortas, número de raízes, comprimento da raiz principal (cm).

4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com 4 tratamentos, contendo 5 repetições, cada repetição consistindo de 5 tubos, totalizando 25 explantes por tratamento e 100 explantes para o experimento.

Os dados para altura das plântulas, número de folhas verdes, número de folhas mortas, número de raízes e comprimento da raiz principal foram submetidos à análise de variância e comparação de médias por meio do Teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o software estatístico Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2014).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados obtidos, observou-se interação significativa entre as concentrações dos reguladores de crescimento e as variáveis altura das plântulas (cm), número de folhas verdes, número de raízes e comprimento de raízes (cm) da mandioca variedade BRS Kiriris. Já para a variável número de folhas mortas, não foi verificada interação significativa, demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1. Resumo da análise de variância para altura das plântulas (ALT - cm), número de folhas verdes (NFV), número de folhas mortas (NFM), número de raízes (NR) e comprimento das raízes (CR - cm), indicando os coeficientes de variação (CV), graus de liberdade (GL) e os quadrados médios das variáveis (QM).

Fonte de Variação	GL	QM				
		ALT	NFV	NFM	NR	CR
Tratamentos	3	0,001*	0,003*	0,409 ^{ns}	0,014*	0,000*
Erro	16	0,177	0,789	0,114	0,919	0,336
Total	19					
CV(%)		25,06	23,81	108,37	67,99	46,75
Média		1,683	3,733	0,312	1,410	1,240

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

^{ns} não significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Para a variável altura das plântulas, os tratamentos 4 (2,21 cm), 2 (1,83 cm) e 3 (1,79 cm) mostraram os melhores resultados, porém, não diferiram estatisticamente entre si (Figura 1). O tratamento 4 promoveu a maior altura quando comparado ao tratamento 1 (0,89 cm), sem a presença de reguladores de crescimento. No entanto, dados encontrados por Mapayi *et al.* (2013), mostraram que o meio MS sem os fitorreguladores promoveu o melhor crescimento das plântulas para três genótipos de mandioca (92/0326, 95/0289 e I-30572) avaliados para micropropagação.

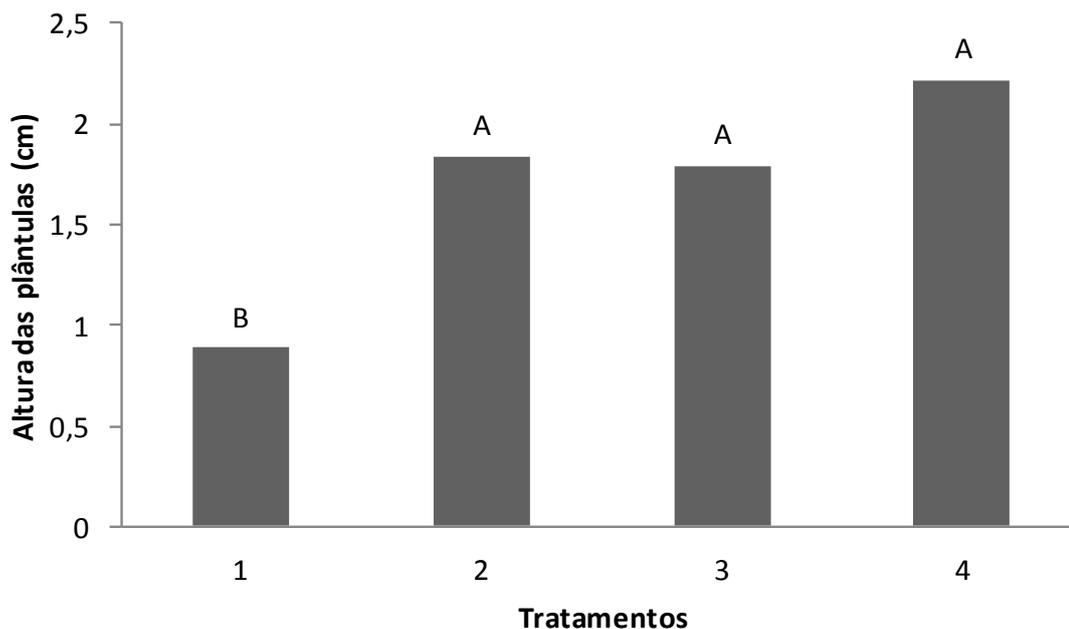


Figura 1- Altura média das plântulas após 30 dias de cultivo *in vitro*. Tratamento 1 - sem reguladores de crescimento; tratamento 2 - 0,01 mg/L de ANA; 0,02 mg/L de BAP e 0,025 mg/L de AG₃; tratamento 3 - 0,02 mg/L de ANA; 0,04 mg/L de BAP e 0,05 mg/L de AG₃ e tratamento 4 - 0,04 mg/L de ANA; 0,08 mg/L de BAP e 0,10 mg/L de AG₃.

O maior crescimento em altura do explante de mandioca foi observado nos valores máximos das concentrações dos reguladores, especificamente o tratamento 4 (2,21cm), o qual possuía a maior concentração da giberelina, que tem sua aplicação mais conhecida no alongamento das partes aéreas (MARTÍNEZ *et al.*, 2013). O mesmo foi encontrado por Mushiyimana *et al.* (2011), onde observaram que explantes da variedade MM06 / 0138 de mandioca cultivados em meio MS suplementado com 40 µM / L de AG₃ demonstraram os melhores resultados, apresentando um aumento significativo da altura das plântulas.

Vidal (2009) em seu trabalho com a mandioca variedade Mocotó também utilizou diferentes fitorreguladores e concentrações, e os melhores resultados foram obtidos para as concentrações 0,04 mg/L de BAP; 0,02 mg/L de ANA; 0,05 mg/L de AG₃, obtendo plântulas com 1,80 cm de altura. Estes resultados demonstraram que a utilização de reguladores de crescimento adicionados ao meio de cultura favoreceram o desenvolvimento das plântulas, corroborando com os resultados deste trabalho.

Para a variável número de folhas verdes, os tratamentos 4 (4,65 folhas) e 2 (4,50 folhas) apresentaram os melhores resultados, respectivamente, não diferindo entre si. O tratamento 4 exibiu diferenças em relação ao tratamento 1 (2,6 folhas) e ao tratamento 3 (3,00 folhas) (Figura 2).

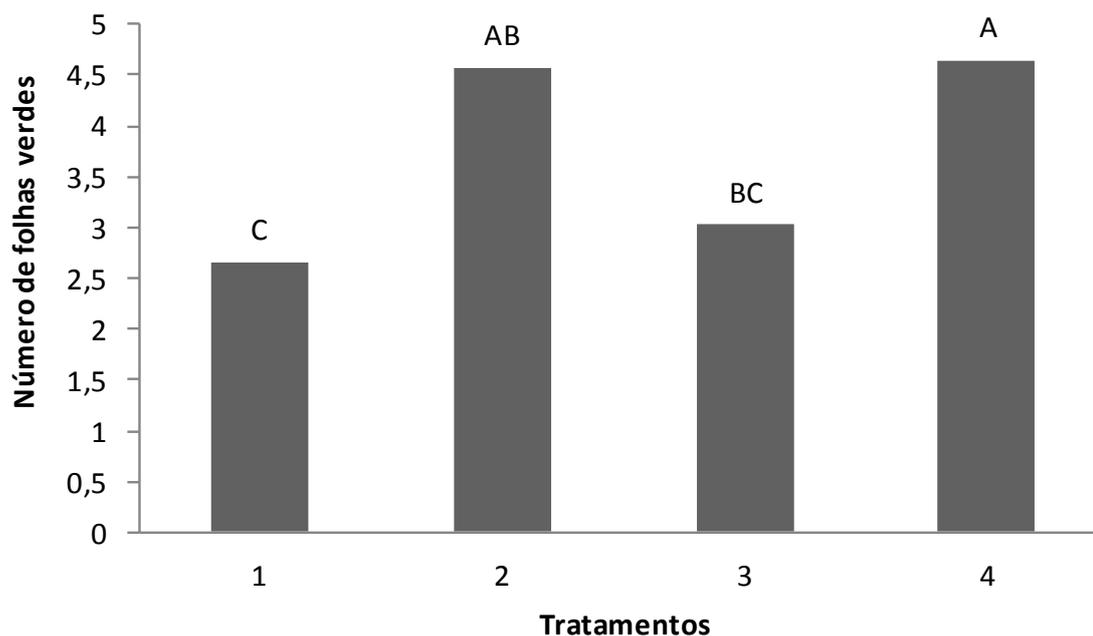


Figura 2- Número de folhas verdes das plântulas após 30 dias de cultivo *in vitro*. Tratamento 1 - sem reguladores de crescimento; tratamento 2 - 0,01 mg/L de ANA; 0,02 mg/L de BAP e 0,025 mg/L de AG₃; tratamento 3 - 0,02 mg/L de ANA; 0,04 mg/L de BAP e 0,05 mg/L de AG₃ e tratamento 4 - 0,04 mg/L de ANA; 0,08 mg/L de BAP e 0,10 mg/L de AG₃.

Sesay *et al.* (2018), utilizaram em seu trabalho três variedades de mandioca (Cocoa, SLICASS 6 e SLICASS 11) e comparou após 30 dias de cultivo os efeitos dos meios com diferentes concentrações de BAP e os melhores resultados foram obtidos com as concentrações 0,05 e 0,1 mg/L de BAP, com uma média de 6,27 e 6,37 folhas por plântula respectivamente. Estes resultados também foram encontrados por Ahanhango *et al.* (2008) que relataram que explantes de mandioca cultivados em meios contendo BAP produziram maior número de folhas em todos os genótipos.

Diferente do resultado encontrado por Dalla Costa *et al.* (2017), em seu trabalho com duas variedades de mandioca, Água morna e Amarelinha, verificou que para o número de folhas verdes, o tratamento sem a presença de reguladores de crescimento (2,09 folhas) mostrou melhor resultado quando comparado aos tratamentos com reguladores. Contudo, a mandioca apresenta grande variabilidade entre suas variedades no ambiente *in vitro*, respondendo de forma distinta ao meio de cultura e as condições de cultivo, principalmente, em função do genótipo (FUKUDA; IGLESIAS; SILVA, 2003).

Quanto ao número de raízes, o tratamento que apresentou melhores resultados foi o tratamento 2 (2,44 raízes), não diferindo dos tratamentos 3 (1,95 raízes) e 1 (0,80 raízes).

No entanto, o T2 apresentou diferenças em relação ao tratamento 4 (0,45 raízes), que apresentou a menor média para o número de raízes (Figura3).

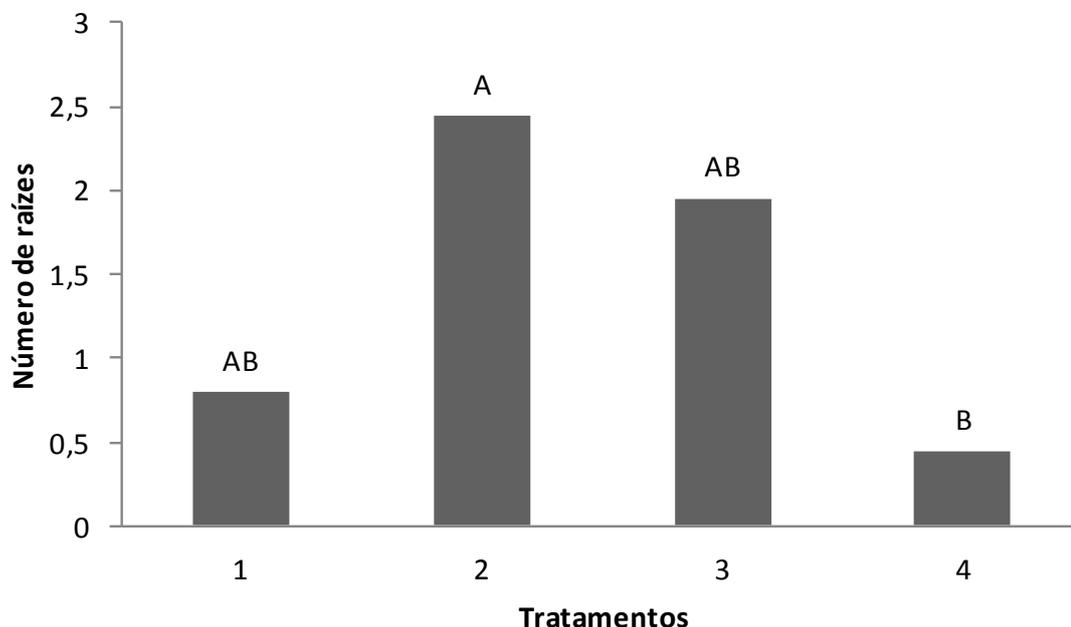


Figura 3 - Número de raízes das plântulas após 30 dias de cultivo *in vitro*. Tratamento 1 - sem reguladores de crescimento; tratamento 2 - 0,01 mg/L de ANA; 0,02 mg/L de BAP e 0,025 mg/L de AG₃; tratamento 3 - 0,02 mg/L de ANA; 0,04 mg/L de BAP e 0,05 mg/L de AG₃ e tratamento 4 - 0,04 mg/L de ANA; 0,08 mg/L de BAP e 0,10 mg/L de AG₃.

Oliveira (2000) destaca a importância da presença de raízes nas plântulas de mandioca, que em quantidade equilibrada auxilia no desenvolvimento da parte aérea e favorece a multiplicação, por promover maior absorção de nutrientes e produção de gemas, as quais servirão de explantes para os próximos subcultivos. Para esta variável, a combinação que apresentou o melhor resultado foi a representada pelo tratamento 2, que representa as menores concentrações dos reguladores no experimento. Por sua vez, a utilização da concentração máxima dos reguladores de crescimento acarretou em menor desenvolvimento de raízes nas plantas.

Estes resultados confirmam o relato de Fan *et al.* (2011), onde as concentrações mais baixas 0 a 2,0 mg/L de ANA mostrou-se mais eficaz no desenvolvimento radicular da mandioca. Assim como o estudo de Shiji *et al.* (2014), utilizando três variedades de mandioca, Sree Vijaya, H-165 e H-226, micropropagadas *in vitro* quando em meio MS contendo 0,1 mg/L de ANA, produziu melhores resultados para indução de raízes.

Vidal (2009) utilizando 0,04 mg/L de BAP; 0,02 mg/L de ANA; 0,05 mg/L de AG₃, obteve 71,1% de enraizamento da variedade de mandioca Mocotó, em 30 dias de cultivo

in vitro. Nunes (2013) em seu trabalho com mandioca de mesa obteve os melhores resultados quando utilizou a concentração 0,01 mg/L de BAP, aproximadamente 95,55% de enraizamento aos 16 dias de cultivo *in vitro*. Estes resultados mostraram que para a cultura de mandioca, as menores concentrações dos fitorreguladores foram promissoras para o crescimento das raízes. Yona *et al.* (2010), cita a mandioca como uma cultura de fácil enraizamento e pode naturalmente formar raízes sem a presença de fitorreguladores, corroborando com os resultados encontrados neste trabalho.

Com relação ao comprimento das raízes, o tratamento 2 (2,60 cm) apresentou média superior quando comparada aos tratamentos 1 (0,54 cm) e 4 (0,17 cm). O tratamento com a máxima concentração dos reguladores vegetais (0,04 mg/L de ANA; 0,08 mg/L de BAP e 0,10 mg/L de AG₃) obteve o menor resultado para esta variável (Figura 4).

O tratamento controle obteve média de 0,54 cm de raiz, valor maior que o tratamento com as concentrações máximas dos reguladores (T4), com média de 0,17 cm de raiz, porém, não diferiram estatisticamente entre si. Silva *et al.* (2015), apresentou em sua pesquisa com mandioca resultados satisfatórios obtidos com meio que não continha reguladores de crescimento, com uma produção média de 5,9 cm de raiz.

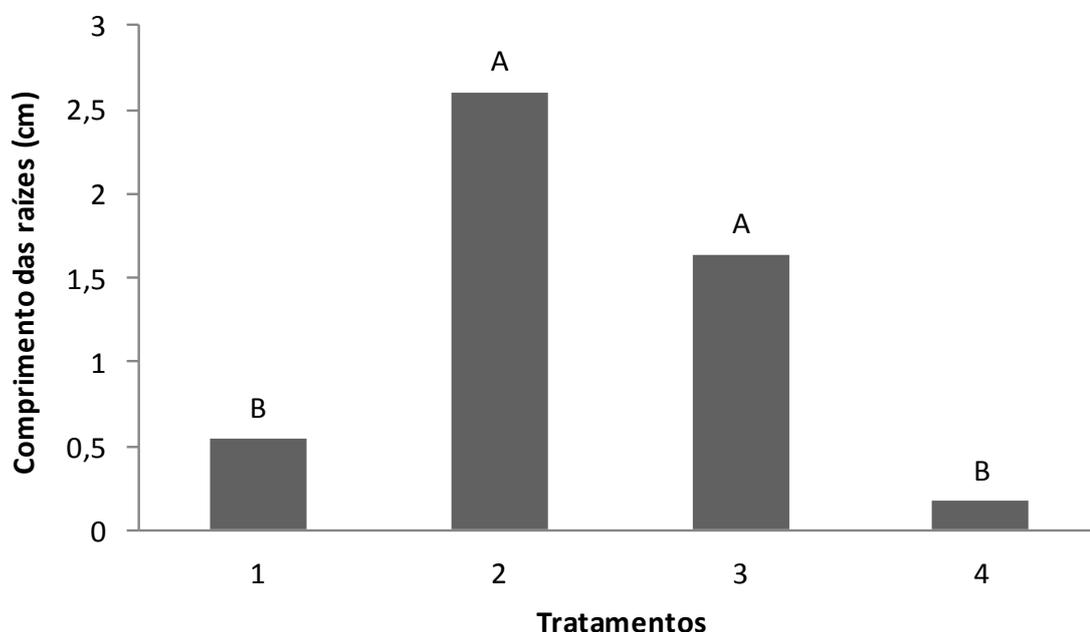


Figura 4 - Comprimento de raízes das plântulas após 30 dias de cultivo *in vitro*. Tratamento 1 - sem reguladores de crescimento; tratamento 2 - 0,01 mg/L de ANA; 0,02 mg/L de BAP e 0,025 mg/L de AG₃; tratamento 3 - 0,02 mg/L de ANA; 0,04 mg/L de BAP e 0,05 mg/L de AG₃ e tratamento 4 - 0,04 mg/L de ANA; 0,08 mg/L de BAP e 0,10 mg/L de AG₃.

Dalla Costa *et al.* (2017), em seu trabalho com as variedades de mandioca Água morna e Amarelinha, obteve os melhores resultados para comprimento de raiz, 3,63 cm e 1,35 cm respectivamente, utilizando a concentração de 0,01 mg/L de ANA + 0,02 mg/L de BAP + 0,025 mg /L de AG₃. As mesmas concentrações de fitorreguladores, utilizadas no tratamento 2, também promoveram o maior crescimento de raízes neste trabalho.

Deste modo, nota-se que parâmetros como o desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular das plântulas foram importantes para avaliar o estabelecimento *in vitro* da mandioca variedade BRS Kiriris. Além disto, a variedade BRS Kiriris se mostrou de fácil estabelecimento *in vitro*, independente dos balanços de reguladores de crescimento aos quais foi submetida (Figura 5).

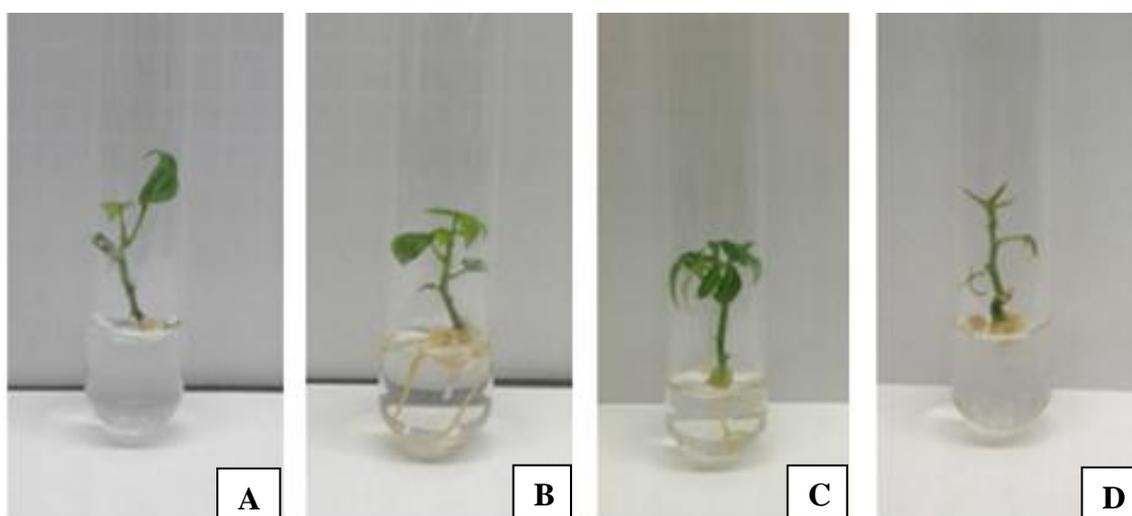


Figura 5- Estabelecimento *in vitro* de mandioca variedade BRS Kiriris sob diferentes balanços de reguladores de crescimento vegetal. (A) tratamento 1 - sem reguladores de crescimento; (B) tratamento 2 - 0,01 mg/L de ANA; 0,02 mg/L de BAP e 0,025 mg/L de AG₃; (C) tratamento 3 - 0,02 mg/L de ANA; 0,04 mg/L de BAP e 0,05 mg/L de AG₃; (D) tratamento 4 - 0,04 mg/L de ANA; 0,08 mg/L de BAP e 0,10 mg/L de AG₃.

6. CONCLUSÃO

A adição de reguladores de crescimento ao meio de cultura são promissores para o estabelecimento *in vitro* da variedade BRS Kiriris.

A altura das plântulas, número de folhas verdes, número de raízes e comprimento das raízes foram favorecidas pelo uso de reguladores de crescimento vegetal.

Para altura das plântulas, número de folhas verdes, número de raízes e comprimento de raízes, a combinação de 0,01 mg/L de ANA + 0,02 mg/L BAP + 0,025 mg /L de AG₃ apresentou os melhores resultados.

A combinação de 0,01 mg/L de ANA + 0,02 mg/L BAP + 0,025 mg /L de AG₃ apresentou os melhores resultados para o estabelecimento *in vitro* da mandioca variedade BRS Kiriris.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALENCAR, D. R. C. Calogênese e regeneração in vitro de brotos a partir de raiz, entrenó e disco foliar de *brosimum gaudichaudii* tréc. (moraceae). **Revista Eletrônica de Biologia**, v. 8, p. 288 – 298, 2015.
- ALMEIDA, N. M.; PACHECO JUNIOR, R. G.; CÉZAR, J. O.; GONÇALVES, H. A.; SOUZA, A. S. **Produção de mudas micropropagadas de mandioca (Manihot esculenta Crantz) em larga escala: uma inovação tecnológica**. In: Congresso Brasileiro De Mandioca, 16; Congresso Latino-Americano E Caribenho De Mandioca, Foz do Iguaçu. Anais... Foz do Iguaçu: SBM, CD-ROM, 2015.
- AKIN-IDOWU, P. E.; IBITOYE, D.O; ADEMOYEGUN O.T. Tissue culture as a plant production technique for horticultural crops. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 16, p. 3782- 3788, 2009.
- BAIRU, M. W.; AREMU, A. O.; VAN STADEN, J. Somaclonal variation in plants: causes and detection methods. **Plant Growth Regulation**. v. 63, p. 147–173, 2011.
- BANDYOPADHYAY, R.; MWANGI M, AIGBE SO, LESLIE JF. *Fusarium* species from the cassava root rot complex in West Africa. **Phytopathology**, Palo Alto, v. 96, p. 673-676, 2006.
- BARROSO, G. M.; *et al.* **Sistemática de angiospermas do Brasil**. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília, DF: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPQ, v. 1, p. 87-132, 1998.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº52, de 07 de novembro de 2011. Regulamento Técnico da farinha de Mandioca. **Diário Oficial da União**, Brasília, nov. 2011.
- BROWN, A .H .D. Variation under domestication in plants: 1859 and today. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**. v.365, p. 2523–2530, 2010.
- BUTT, J. S.; VARIS, S.; NASIR I. A.; SHERAZ S.; SHAHID A.; ALI, Q. micropropagation in advanced vegetable production: a review. **Advancements in Life Sciences**, v. 2, n. 2, p. 48-57, 2015.
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. **Meios nutritivos**. In: TORRES, A. L.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília, DF: ASCTP/Embrapa-CNPQ, v. 2, p. 89-164, 1998.
- CANÇADO, G. M. DE A.; BRAGA, F. T.; SOUZA, R. A. V.; NUNES, C. F.; RIBEIRO, A. P.; SOARES, B. D. F. **Cultivo in vitro da oliveira e suas aplicações**. In: OLIVEIRA, A. F. (Ed.) Oliveira no Brasil: tecnologias de produção, p. 275-310, 2012.
- CARVALHO, V. D.; KATO, M. S. A. Potencial de utilização da parte aérea da mandioca. **Informe Agropecuário**, v.13, n.145, p.23-28, 1987.

CARVALHO, A. C. P. P.; TORRES, A. C.; BRAGA, A. J. B.; LEMOS, E. E. P.; SOUZA, F. V. D.; PETERS, J. A.; WILLADINO, L.; CÂMARA, T. R. Glossário de cultura de tecidos de plantas. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v.7, p.30-60, 2011.

CEBALLOS, H. **Taxonomia e morfologia de la Yuca**. In: OSPINA, I. A.; CEBALLOS, H. La Yuca en el tercer milenio. Cali: CIAT, Publicacion. 327, p. 17-33, 2002.

CENCI, S. A.; CHITARRA, M. I. F. Controle de abscisão pós-colheita de uva Niagara Rosada Vitis (labrusca L. x vinifera L.): Mecanismos decorrentes da aplicação de ANA e cálcio no campo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 16, n.1, p. 146-155, 1994.

CEREDA, M. P., *et al.* Propriedades gerais do amido. **Serie: culturas de tuberosas amiláceas latino-americanas**, v. 1, 221 p., São Paulo, Brasil: Fundação Cargill, 2001.

CHISTÉ, R.C.; COHEN, K. O.; MATHIAS, E. A.; OLIVEIRA, S.S. Quantificação de cianeto total nas etapas de processamento das farinhas de mandioca dos grupos seca e d'água. **Acta Amazônica**, v.40, p.221-226, 2010.

COSTA, A. S.; BLANK, M. F. A.; SILVA, J. H. S.; TORRES, M. F.; SANTOS, O. N. A.; BLANK, A. F. Multiplicação *in vitro* e indução de calos embriogênicos em híbrido de manjeriço. **Scientia Plena**, v. 11, n. 01, 12 p., 2015.

DALLA COSTA, T. P. ; PAULA, M. S. P.; SIA, E. F. **Indução de calogênese e resposta morfogenética in vitro de variedades de *Manihot esculenta* Crantz da região Oeste do Estado do Pará**. In: VII Seminário de Iniciação Científica, 2017, Santarém. Anais do VII Seminário de Iniciação Científica da UFOPA, 2017.

DEB, C.R.; IMCHEN, T. An efficient *in vitro* hardening technique of tissue culture raised plants. **Biotechnology**, v. 9, n. 1, p. 79-83, 2010.

DOBRÁNSKI, J; SILVA, J. A. T. Micropropagation of apple - A review. **Biotechnology Advances**. v. 28, p. 452-488, 2010.

DOMÍNGUEZ, E. C.; CEBALLOS, L. F.; FUENTES, C. Morfologia de la planta de yuca. DOMÍNGUEZ, C. E. (Ed.) **Yuca: investigation, production y utilization**. Cali: CIAT, P. 29-49, 1984.

EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Disponível em: < <https://www.embrapa.br>>. Acesso em março 2018.

EMBRAPA – **Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária / Mandioca e Fruticultura**. Área colhida, quantidade produzida e rendimento médio, 2016. Disponível em < <http://www.cnpmf.embrapa.br> > Acesso em junho de 2018.

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 junho 2018.

FAO – **Food and Agriculture Organization of United Nations Statistics** - Crops - < <http://www.fao.org> > Acesso em junho de 2018.

FAN, M.; LIU, Z.; ZHOU, L.; LIN, T.; LIU, Y.; LUO, L. Effect of plant growth regulators and saccharides on in vitro plant and tuberous root regeneration of cassava (*Manihot esculanta* Crantz). **J. Plant Growth Regul.** v. 30, p. 11-19, 2011.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

FIALHO, J. de F; VIEIRA, E. A. Mandioca no Cerrado: orientações técnicas. Planaltina, DF : **Embrapa Cerrados**. 203 p, 2.ed, 2011.

FILGUEIRAS, G. C.; HOMMA, A. K. O. **Aspectos Socioeconômicos da Cultura da Mandioca na Região Norte**. In: Modesto Júnior, M. S.; ALVES, R. N. B.; Cultura da Mandioca. Brasília: Embrapa, p. 16-123, cap.1, 2016.

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.

FOTSO, E. H. D. B.; *et al.* Effect of exogenous phytormones ond sucrose on micropropagation of *Manihot esculenta* Crantz var. 96/0023. **African Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 39, p. 3966-3976, 2014.

FUKUDA, W. M. G. Mandioca: estratégia para um programa de melhoramento genético. Cruz das Almas: **EMBRAPA- CNPMF**, v. 71, p. 35, 1996.

FUKUDA. W. M. G.; IGLESIAS, C.; SILVA, S. O. Melhoramento de mandioca. Cruz das Almas: Embrapa, (**Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**. Documentos, 104), 2003.

FUKUDA, W. M. G., COSTA, I. R. S.; SILVA, S. de O. Manejo e conservação de recursos genéticos de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) na Embrapa mandioca e fruticultura tropical. Cruz das Almas: **Embrapa mandioca e fruticultura** (circular técnica), dez. 2005.

CARVALHO, J.E.; FUKUDA, W.M.G. Estrutura da planta e morfologia. In: EMBRAPA Mandioca e Fruticultura Tropical. **Aspectos socioeconômicos e agronômicos da mandioca**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. Cap.6, p.126-137.

GARCÍA-GONZÁLES, R.; QUIROZ, K.; CARRASCO, B.; CALIGARI, P. Plant tissue culture: Current status, opportunities and challenges. **Ciencia e Investigación Agraria**, v. 37, n. 3, p. 5-30, 2010.

GULICK, R.; HERSHER, C.; ALCAZAR, J. E. Genetic resources of cassava and wild relatives. Rome: **IBPGR**, 56 p. 1983.

GUO, J. Y.; LIU, Y. Q. **Rapid propagation of cassava by tissue culture and its application in rural districts in China**. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC MEETING ON CASSAVA BIOTECHNOLOGY NETWORK, 2., Bogor, 1994. Proceedings. Bogor : Cassava Biotechnology Network, p.183-189, 1994.

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

HAWERROTH, F. J.; MACEDO, C. K. B.; MAGRIN, F. P.; PETRI, J. L. Reguladores de crescimento, importância, perspectivas e utilização. **Agropecuária Catarinense**, São Joaquim, SC, Embrapa Uva e Vinho, v. 29, n. 2, p. 50, 2016.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em março 2018.

IBGE - **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística** / Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Área colhida, área plantada e produção, por ano da safra e produto das lavouras. Disponível em < <http://sidra.ibge.gov.br> >. Acesso em junho de 2018.

JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S.; Aspectos práticos da micropropagação de plantas. 2^o ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa mandioca e fruticultura, 2013.

JUNKES, C. F. O. *Estudos preliminares para micropropagação de malus prunifolia cv. marubakaido em sistema de imersão temporária*. 2015. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2015.

KADHIMI, A. A.; ALHASNAWI, A. N.; MOHAMAD, A.; YUSOFF, W. M. W.; BINTI, C. R. Tissue culture and some of the factors affecting them and the micropropagation of strawberry. **Life Science Journal**, v. 11, n. 8, p. 484-493, 2014.

KAWANO, K; AMAYA, P; RIOS, M. Factors affecting efficiency of hybridization and selection in cassava. **Crop Science**, Madison, v.17, p.373-6, 1978.

LARA, A. C.; SILVIO JOSÉ BICUDO, S. J.; BRACHTVOGEL, E. L.; ABREU, M. L.; CURCELLI, F. Melhoramento Genético Da Cultura Da Mandioca (*Manihot Esculenta* Crantz). **Raízes e Amidos Tropicais**, Botucatu, v. 4, p.55-65, 2008.

LEITZKE, L. N.; DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Influência do meio de cultura, tipo e concentração de citocininas na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta e framboeseira. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 2, p. 352-360, 2010.

LIMA, M. F., REIFSCHNEIDER, F. J. B.; TAKATSU, A.; FONSECA, M. E. N. Caracterização de isolados de *Phytophthora* de mandioca. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 416-424. 1993.

MABANZA, J.; *et al.* **Evaluation of cleaned cassava varieties in Congo**. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC MEETING ON CASSAVA BIOTECHNOLOGY NETWORK, 2., 1994, Bogor. Proceedings. Bogor: Cassava Biotechnology Network, p. 194 - 201, 1994.

MAPAYI, E. F.; *et al.* Optimization of *in vitro* propagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes. **Journal of Agricultural Science**. v. 5, p. 261-269, 2013.

MARTIN, F.W. Cytogenetic and plant breeding of cassava. **Plant Breeding Abstracts**. Cambridge, v. 46. p. 909-912, 1976.

MARTÍNEZ, L. O. MENDOZA, J. O.; VALENZUELA, C. M.; SERRANO, P.; OLARTE, J. S.. Efecto de las giberelinas sobre el crecimiento y calidad de plántulas de tomate. **Biotecnia**, v. 15, p. 56-60, 2013.

MENDONÇA, J. O; LEDO, C. A. DA S.; SOUZA, A. DA S.; CARVALHO, M. DE J. DA S. DE. **Reguladores de crescimento ANA e BAP na micropropagação de espécie silvestre de mandioca *Manihot chlorosticta* Standl. & Goldman**. In: Jornada Científica- EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, IX, 2015, Cruz das Almas-BA:EMBRAPA, 2015.

MEZETTE, T. F. *Seleção de clones de mandioca com alto teor de carotenoides e vitamina A*. 2007. 59 p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agrônômico de Campinas, Campinas, 2007.

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

MORAIS, T. P.; LUZ, J. M. Q.; SILVA, S. M.; RESENDE, R. F.; SILVA, A. S. Aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 1, p. 110-121, 2012.

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

MUNIZ, M. F. S.; ANDRADE, F. W. R. A.; QUEIROZ, F. M.; FILHO, G. M.; MENEZES, M. Caracterização de isolados de *Phytophthora drechsleri*, agente causal da podridão mole de raízes de mandioca. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, p. 195-198, 2006.

MUSHIYIMANA, I.; HAKIZIMANA, E.; GASHAKA, G.; SALLAH, P. Y. K.; KALISA, S.; GATUNZI, F.; ASIIMWE, T.; KAHIA, J.; GAHAKWA, D. Micropropagation of disease resistant Cassava variety in Rwanda. **Ruanda Journal**, Series E Agricultural Scienses, Ruanda, v.24, p. 49 – 57, 2011.

NASSAR, N. M. A. Cytogenetics and evolution of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Genetic and Molecular Biology**, U.S.A, v. 23, n. 4, p. 1003-1014, 2000

NKAA, F. A.; ENE-OBONG, E. E.; TAYLOR, N.; FAUQUET, C.; MBANASO, E. N. A. Elimination of African Cassava Mosaic Virus (ACMV) and East African Cassava Mosaic Virus (EACMV) from cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cv. Nwugo' via somatic embryogenesis. **American Journal of Biotechnology and Molecular Sciences**, v. 3, n.2, p. 33-40, 2013.

NUNES, E. C. *Caracterização físico-química do amido e cultura de células e tecidos vegetais como ferramentas biotecnológicas à seleção e conservação de germoplasma de mandioca de mesa (*Manihot esculenta* Crantz)*. 2013. 167 p. Dissertação (doutorado), Universidade Federal de Santa Catarina, Centros de ciências biológicas. Programa de Pós-graduação em Biotecnologia e Biociências, Florianópolis, 2013.

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.

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

ONYEKA, T. J.; DIXON, A. G. O.; EKPO, E. J. A. Field evaluation of root rot disease and relationship between disease severity and yield in cassava. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 41, p. 357-363, 2005.

ORLANDIN, P.; LIMA, L. R. Sinopse do gênero *Manihot* Mill. (*Euphorbiaceae*) no Estado de São Paulo, Brasil. **Hoehnea**, v.41, p.51-60, 2014.

PARMAR, N. R.; PRABHAKAR, D.; PANDIT; HEMANT, J.; PUROHIT, J. I.; NIRMAL KUMAR; CHAITANYA, G. J. Influence of diet composition on cattle rumen methanogenesis: a comparative metanogenic analysis in Indian and exotic cattle. **Indian Journal of Microbiology**, p. 226-234, 2017.

PENET, L.; CORNET, D.; BLAZY, J. M.; ALLEYNE, A.; BARTHE, E.; BUSSIÈRE, F.; GUYADER, S.; PAVIS, C.; PÉTRO, D. Varietal Dynamics and Yam Agro-Diversity Demonstrate Complex Trajectories Intersecting Farmers' Strategies, Networks, and Disease Experience, *Front. Plant Science*. v.7. 2016.

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.2, n.2, p.135-142, 2016.

PIZA, I. M. DE T.; PINHO, R. S. **Protocolo de micropropagação da mandioca**. IN: CEREDA, M. P. (Ed.). Agricultura: tuberosas amiláceas Latino Americanas. 1 ed. São Paulo: Fundação Cargill, (Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas), v. 2, p.178 - 187, 2002.

PROENÇA, G. G.; PIZARRO, C. A.; AZEVEDO, J. A. Construção de modelos estatísticos baseados na avaliação de séries temporais históricas da cultura da mandioca no Brasil. **Agroalimentaria**. v. 23, nº. 45, p. 141-158, 2017.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. *Biologia vegetal*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

RIMOLDI, F. Yield stability in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cultivars in the North and northwest regions of Paraná State. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**., v.42, p.197-204, 2003.

ROCA, W. M. **Cassava**. In: SHARP, W.R.; EVANS, D. A.; AMMIRATO, P. V.; YAMADA, Y. (Ed.). Handbook of plant cell culture: crop species. New York: Mcmillan, p. 269-301, 1984.

ROCA, W. M.; et al. In vitro methods of germplasm conservation. *Genome*. **Toronto**, v.31, p. 813-817, 1989.

RONDÓN, J. M. L. *Influência do armazenamento de manivas de mandioca (Manihot esculenta Crantz) na produção de raízes e ramas*. 1984, 90p. Dissertação (Mestrado) Lavras: ESAL, Minas Gerais, 1984.

SALLA, D. A. *Análise energética de sistemas de produção de etanol a partir da mandioca, da cana-de-açúcar e do milho*. 2008. 185 p. Dissertação (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrônomicas/ UNESP, Botucatu-SP, 2008.

SALLES, E. A. P. B., ALCANTARA, G. B.; QUOIRIN, M. G. G.; GONÇALVES, A. N.; HIGA, A. R. Desinfestação e introdução in vitro de segmentos nodais de *Acacia mearnsii*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 37, n. 92, p. 485-491, 2017.

SANCHES, A.G; SILVA, M. B. S.; MOREIRA, E. G. S.; COSME, S. S. Análise sensorial e viabilidade econômica da mandioca de mesa *in natura* e congelada. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. Ponta Grossa, v. 11, n. 2, p. 2332-2349, 2017.

SANTANA, E. M.; FURTUNATO, D. M. N.; BORGES, Í. M. P.; CARDOSO, R. C. V. Estudo qualitativo da perspectiva dos consumidores de farinha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) comercializada na feira livre das sete portas, Salvador, BA. **Higiene Alimentar** , v.31 n.266-267, 2017.

SERRA, I. M. R. S., SILVA, G. S. S.; NASCIMENTO, F. S.; LIMA, L. K. F. *Scybalidium lignicola* em mandioca: ocorrência no Estado do Maranhão e reação de cultivares ao patógeno. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 4, p. 327-328, 2009.

SESAY, J. V., YAMBA, N. G. G., SHERMAN-KAMARA, J., & QUEE, D. D. Development of *in vitro* propagation protocol for some recalcitrant Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes in Sierra Leone. **African Journal of Biotechnology**, v.17 (18), p. 606-613, 2018.

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

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

SILVA, R. M., FARALDO, M. I. F.; AKIHIKO, A.; VEASEY, E. A. **Variabilidade genética de etnovarietades de mandioca**. In: CEREDA, M. P. (Coord.). *Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas*. São Paulo: Fundação Cargill (Série Culturas de tuberosas amiláceas latino-americanas), v. 1, p. 13-56, 2002.

SILVA, I. M. C. *Cultivo in vitro de Pyrus sp., cultivares Carrick, Cascatense e Ya-Li*. 2013. Dissertação (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

SILVA, S.; FERREIRA, F. F.; GATO, A. M. G. Efeitos de diferentes concentrações de 6-Benzilaminopurina no cultivo in vitro de *Manihot esculenta* Crantz. **Scientia Amazonia**, v.4, n.1, 105-111, 2015.

SILVA, R. S.; SILVA, R. S.; MOURA, E. F.; FARIAS-NETO, J. T.; LEDO, C. A.; SAMPAIO, J. E. Selection of morphoagronomic descriptors for the characterization of accessions of cassava of the Eastern Brazilian Amazon. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 16, n. 2, p. 1-11, 2018.

SOUZA, C. *Acumulação de fitomassa em variedades de mandioca submetidas a diferentes épocas de corte*. 2009, 146 f Tese (Doutorado em Agronomia) Centro de Ciências agrárias, Universidade Federal da Paraíba, 2009.

SOUZA, A. S.; JUNGHANS, T. G.; SOUZA, F. V. D.; SANTOS-SEREJO, J. A.; MENEZES, M. C.; SILVEIRA, D. G. ; SANTOS, V. S.; **Micropropagação da mandioca**. Cap. 7, parte 2. |In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S.; Aspectos práticos da Micropropagação de plantas. 2 ed. Ver. e ampl – Brasília, DF: Embrapa, 2013.

ULISSES, C.; WILLADINO, L.; ALBUQUERQUE, C. C.; CÂMARA, T. R. **Clonagem Vegetal**. Anais... da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica, Recife, vol. 7, p.86-91, 2010.

VALLE, T. L.; CARVALHO, C. R. L.; RAMOS, M. T. B.; MÜHLEN, G. S.; VILLELA, O. V. Conteúdo cianogênico em progênies de mandioca originadas do cruzamento de variedades mansas e bravas. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 2, p. 221-226, 2004.

VIDAL, A. M. *Micropropagação e Embriogênese Somática em Variedades Cultivadas de Mandioca*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Cruz das Almas, Bahia, 2009.

VILPOUX, O. F. Competitividade da mandioca no Brasil, como matéria-prima para amido. **Informações Econômicas**, SP, v. 38, n.11, nov. 2008.

WEISS, D.; ORI, N. Mechanisms of cross talk between gibberellin and other hormones. **Plant Physiology**, v.144, n.3, p.1240-6, 2007.

WONGTIEM P.; COURTOIS, D.; FLORIN, B.; JUCHAUX, M.; PELTIER, D.; BROUN, P.; DUCOS, J. P. Effects of cytokinins on secondary somatic embryogenesis of selected clone Rayong 9 of *Manihot esculenta* Crantz for ethanol production. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 9, p. 1600-1608, 2011.

YONA, B., *et al.* **Cassava Tissue Culture Techniques**. In: Tissue Culture, Conservation Biotechnology, Virus Indexing and Seed Systems for Vegetative Crops. A Training Manual, 2010.