



**MICROPROPAGAÇÃO E INDEXAÇÃO DE  
MANDIOQUINHA-SALSA**

**NUNO RODRIGO MADEIRA**

**2004**

58469

049945

**NUNO RODRIGO MADEIRA**

**MICROPROPAGAÇÃO E INDEXAÇÃO DE  
MANDIOQUINHA-SALSA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de "Doutor".

**Orientador:**  
**Prof. Dr. Rovilson José de Souza**

**LAVRAS**  
**MINAS GERAIS - BRASIL**  
**2004**

DATA

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Madeira, Nuno Rodrigo

Micropropagação e indexação de mandioquinha-salsa. / Nuno Rodrigo  
Madeira -- Lavras: UFLA, 2004.

139 p. : il.

Orientador: Rovilson José de Sousa.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. *Arracacia xanthorrhiza*. 2. Batata-baroa. 3. Cultivo *in vitro*  
4. Aclimatização.

I. Universidade Federal de Lavras. II. Título


NUNO RODRIGO MADEIRA

MICROPROPAGAÇÃO E INDEXAÇÃO DE  
MANDIOQUINHA-SALSA

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de "Doutor".

APROVADA em 24 de maio de 2004

Pesquisador Dr. Fausto Francisco dos Santos	Embrapa Hortaliças
Pesquisador Dr. André Nepomuceno Dusi	Embrapa Hortaliças
Prof. Dr. Luís Antônio Augusto Gomes	DAG - UFLA
Prof. Dr. Moacir Pasqual	DAG - UFLA

  
Prof. Dr. Rovilson José de Souza  
DAG - UFLA  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL

## **DEDICO**

**À minha amada Família, especialmente  
ao meu, saudoso e presente, admirado Pai.**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me permitir galgar a escala evolutiva da vida.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Unidades Embrapa Hortaliças - CNPH e Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia - CENARGEN, pelo apoio no desenvolvimento das atividades.

À Universidade Federal de Lavras - UFLA pela oportunidade de realização do doutorado, permitindo-me evoluir, pessoal e profissionalmente.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela ajuda financeira no desenvolvimento de minhas atividades durante os dois primeiros anos de doutoramento.

Ao Centro Internacional de la Papa - CIP por disponibilizar anti-soros dos principais vírus identificados no Peru infectando mandioca-salsa.

Ao professor Dr. Rovilson José de Souza pela orientação e amizade, sempre com abertura, sobriedade e compreensão.

Ao co-orientador, pesquisador Dr. Fausto Francisco dos Santos pela presteza, segurança, amizade e apoio.

Ao co-orientador, virologista Dr. André Nepomuceno Dusi, um agradecimento especial pelas orientações, sempre com franqueza e objetividade, e pela amizade.

Ao co-orientador João Batista Teixeira pelas orientações na área de cultura de tecidos.

Ao professor Moacir Pasqual e à equipe do laboratório de cultura de tecidos pelo apoio no desenvolvimento dos trabalhos de cultura de tecidos.

Aos colegas de trabalho no laboratório de cultura de tecidos da Embrapa Hortaliças, Getúlio e Leni, do laboratório de cultura de tecidos do Cenargen, Célia Arimura e Cristina Salgado, e do laboratório de virologia da Embrapa Hortaliças, Lúcio Flávio e Edmilson, pelo apoio e amizade.

Aos amigos e colegas, Marcos e Eliane, Porto e Rose, Franciso e Patrícia, Válder e Nadja, Dejoel e Cula, Dione, Ronessa e Samuel, Luís Eduardo, Flávio Benites, Artur, Paulo, Juliano, Marcos, Sebastião, José Hortêncio, Flávio Moraes, Andrei, Gleiber, Cássia, Manguinha, entre outros, pelo apoio e amizade. Ainda que longe de alguns de vocês, tenho-os em alta estima.

À minha família, pela compreensão, amor e companheirismo, que me mantém de cabeça erguida.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram com este trabalho.

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

Nuno Rodrigo Madeira, filho de Arcindo Augusto da Silva Madeira e Doris Madeira Gandres, nascido no município do Rio de Janeiro a 06 de maio de 1971, é engenheiro agrônomo formado pela Universidade Federal de Viçosa (UFV) em 1994. Atuou na produção de hortaliças no município de Sumidouro, RJ, principalmente com a cultura da mandioquinha-salsa (batata baroa). Em 1997 ingressou na EMATER-MG, locado no escritório local do município de Santa Margarida, próximo a Manhuaçu. Em março de 1998 iniciou o Mestrado pela Universidade Federal de Lavras (UFLA), na área de concentração Fitotecnia/Olericultura, concluindo o Curso em março de 2000. Iniciou o Doutorado em abril de 2000, na mesma área de concentração. Em 03 de junho de 2002 ingressou para a Embrapa Hortaliças, onde desenvolve atividades em duas linhas de pesquisa, cultivo de hortaliças em sistemas de plantio direto e cultura da mandioquinha-salsa.

**“Unas raíces hay tan gruesas como el brazo, y mas y menos, y muy semejantes en el sabor y olor y color a las zanahorias, salvo que no tienen aquella medula o tallo de en medio duro como la zanahoria sino todo este fruto o raíz se come muy bien...”**

**Oviedo**

**Informação recebida de um tal Diego de Molina, em 1533, recém-chegado de Castilla la Nueva (atuais Equador, Peru e Bolívia), informando sobre uma estranha planta, semelhante à cenoura, cultivada pelos nativos no Novo Mundo.**



## SUMÁRIO

	Página
RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	ii
1 INTRODUÇÃO .....	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	03
2.1 Mandioquinha-salsa .....	03
2.2 Propagação de Mandioquinha-salsa .....	07
2.3 Vírus em Mandioquinha-salsa .....	09
2.4 Obtenção de Plantas Livres de Vírus .....	12
2.5 Cultura de Tecidos em Mandioquinha-salsa .....	17
2.6 Limpeza clonal a partir da cultura de tecidos .....	21
3 MATERIAL E METÓDOS .....	29
3.1 Cultura de Tecidos .....	30
3.1.1 Avaliação dos meios B5 e MS .....	33
3.1.2 Avaliação do tipo de auxina da concentração do meio MS .....	34
3.1.3 Avaliação do tamanho de explante .....	35
3.1.4 Avaliação da concentração de BAP .....	36
3.1.5 Avaliação da concentração de ácido giberélico .....	37
3.1.6 Avaliação da concentração de mio-inositol .....	38
3.2 Aclimatização .....	39
3.2.1 Avaliação do sistema de irrigação e da adição de casca de arroz carbonizada .....	39
3.2.2 Avaliação do corte basal das plantas .....	40
3.3 Desenvolvimento <i>In Vivo</i> .....	41
3.3.1 Avaliação do desenvolvimento inicial .....	41
3.3.2 Avaliação da produção em campo .....	42
3.4 Vírus em mandioquinha-salsa no Brasil .....	44
3.4.1 Inoculação mecânica em círculo de hospedeiros .....	44

3.4.2 Indexação pela inoculação mecânica em plantas indicadoras .....	45
3.4.3 Indicativos para a caracterização de vírus em mandioquinha-salsa no Brasil .....	46
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>47</b>
4.1 Cultura de Tecidos .....	47
4.1.1 Avaliação dos meios B5 e MS .....	48
4.1.2 Avaliação do tipo de auxina e da concentração do meio MS .....	53
4.1.3 Avaliação do tamanho de explante .....	55
4.1.4 Avaliação da concentração de BAP .....	59
4.1.5 Avaliação da concentração de ácido giberélico .....	64
4.1.6 Avaliação da concentração de mio-inositol .....	68
4.2 Aclimatização .....	71
4.2.1 Avaliação do sistema de irrigação e da adição de casca e arroz carbonizada .....	71
4.2.2 Avaliação do corte basal das plantas .....	77
4.3 Desenvolvimento In Vivo .....	80
4.3.1 Avaliação do desenvolvimento inicial .....	80
4.3.2 Produção em campo .....	83
4.4 Vírus em mandioquinha-salsa no Brasil .....	89
4.4.1 Inoculação mecânica em círculo de hospedeiros .....	89
4.4.2 Indexação pela inoculação mecânica em plantas indicadoras .....	92
4.3 Caracterização de vírus em mandioquinha-salsa no Brasil .....	96
<b>5 CONCLUSÕES .....</b>	<b>98</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>99</b>
<b>7 ANEXOS .....</b>	<b>110</b>

## RESUMO

MADEIRA, N. R. **Micropropagação e indexação de mandioquinha-salsa.** 2004. 139 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Este trabalho teve por objetivos estabelecer protocolos eficientes para o cultivo *in vitro* e a aclimatização de mandioquinha-salsa e avaliar o desempenho agrônômico e a limpeza do material obtido a partir da cultura de tecidos. Testaram-se os meios de cultura B5 e MS e diferentes concentrações de reguladores de crescimento e de mio-inositol. O meio B5 acrescido de  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$  de ANA +  $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$  de BAP +  $0,25 \text{ mg.L}^{-1}$  de GA<sub>3</sub> foi o melhor meio de cultivo para a regeneração de ápices caulinares com 0,4 mm e de gemas apicais, com 2 e com 5 mm. Para a fase de aclimatização, o uso de casca de arroz carbonizada combinada com o sistema de irrigação por flutuação proporcionou taxas de sobrevivência mais altas. O corte basal de calos reduziu as taxas de sobrevivência e de crescimento. O material propagativo originado a partir da cultura de tecidos produziu plantas mais vigorosas que o material tradicionalmente cultivado em testes em vaso em casa de vegetação. A produtividade em campo de plantas da cv. Amarela de Senador Amaral obtidas a partir da cultura de tecidos pela empresa In Vitro foi comparada a plantas comerciais, produzindo 51% mais. Ensaio preliminar foi conduzido no sentido de determinar as plantas indicadoras mais apropriadas para a indexação para vírus em mandioquinha-salsa, verificando-se o desenvolvimento de lesões locais em *Chenopodium quinoa* e *C. amaranticolor* e mosaico sistêmico em *Nicotiana benthamiana*. O material tradicionalmente cultivado no País está infectado com, pelo menos, um *Potyvirus*. Das amostras de plantas de cultura de tecidos inoculadas mecanicamente, 53% das obtidas a partir de ápices caulinares com cerca de 0,4 mm não induziram a formação de sintomas em plantas indicadoras. O uso de material propagativo originado a partir da cultura de tecidos com alta qualidade sanitária proporciona incrementos produtivos e a adoção desta tecnologia depende de estudos de viabilidade técnica e econômica.

---

Comitê Orientador: Dr. Rovilson José de Souza - UFLA (Orientador); Dr. Fausto Francisco dos Santos - Embrapa Hortaliças; Dr. João Batista Teixeira - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; Dr. André Nepomuceno Dusi - Embrapa Hortaliças.

## ABSTRACT

MADEIRA, N. R. **Arracacha micropropagation and indexing**. 2004. 139 p. Thesis (Doctor in Agriculture) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

This work aimed to establish efficient protocols for in vitro culture and acclimatization of arracacha. The agronomic performance and phytosanitary status regarding virus infections of the micropropagated material were also evaluated. The development of plants obtained from shoot-tip culture with circa 0,4 mm and from stem apices with 2 and 5 mm were evaluated in MS and B5 media with different concentration of growth regulators and mio-inositol. The B5 medium with the addition of 0,1 mg.L<sup>-1</sup> NAA + 0,3 mg.L<sup>-1</sup> BAP + 0,25 mg.L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> resulted in better development of plants. The effect of the addition of carbonized rice peel (CRP) to the commercial substrate and two irrigation systems (floating and sprinkling) were tested during the acclimatization. The use of CRP along with the floating irrigation system resulted in a higher survival rate compared to the other combinations. The calus basal cut of the corms reduced both survival and growth rates. The propagation material originated from tissue culture plants produced more vigorous plants than the traditional commercial material under pot tests in a greenhouse. The yield of plants of cv. Amarela de Senador Amaral originated from tissue culture plants by the In Vitro Company at field level was compared with commercial material and was over 51% higher. A preliminary assay was conducted to determine the appropriate indicator plants for the indexing tests. Samples of tissue culture material were mechanically inoculated to *Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor* and *Nicotiana benthamiana*. Commercial material is infected with at least one potyvirus species. Fifty three percent of the plants obtained from shoot-tips with 0,4 mm did not induce local lesions on *C. amaranticolor* and *C. quinoa* nor systemic mosaic symptoms on *N. benthamiana*. The use of tissue culture propagation material with a high sanitary status improves yield at field level and the adoption of this technology depends on the technical and economics viability studies.

---

Guidance Committee: DSc. Rovilson José de Souza - UFLA (Major Professor), DSc. Fausto Francisco dos Santos - Embrapa Hortaliças; DSc. João Batista Teixeira - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; DSc. André Nepomuceno Dusi - Embrapa Hortaliças.

## 1 INTRODUÇÃO

A propagação vegetativa faz com que as doenças causadas por vírus sejam intensificadas de forma progressiva ao longo das sucessivas gerações de cultivo em condições de campo. Este processo denomina-se degenerescência, afetando culturas como a batata, o morango, o alho e a batata-doce, entre outras. A mandioquinha-salsa, por ser também propagada vegetativamente, certamente está acumulando vírus e outros patógenos degenerativos. Possivelmente, a implementação da tecnologia de produção de mudas sadias com baixos níveis de patógenos causadores de doenças degenerativas, obtidas a partir da cultura de ápices caulinares (meristemas mais primórdios foliares), contribuirá para que se obtenham incrementos produtivos significativos.

A produção de mudas sadias com alta qualidade sanitária a partir da cultura de tecidos é cada vez mais usada em diversas espécies de propagação vegetativa, como ornamentais, frutíferas e hortaliças, com o objetivo de obter mudas com alta qualidade fisiológica e sanitária. A produção de batata e a de morango são exemplos disso, sendo prática estabelecida o uso de batata-semente certificada ou registrada e de mudas sanitizadas de morango, isto é, mudas com alta qualidade sanitária obtidas a partir da cultura de tecidos, produzidas em biofábricas, ou seja, empresas de biotecnologia que produzem mudas sadias em larga escala.

Também, profissionais da área de pesquisa e produção reconhecem o incremento produtivo proporcionado por esta tecnologia em alho e batata-doce, porém ainda são necessários ajustes para seu emprego em larga escala, de forma generalizada.

Quanto à mandioquinha-salsa, alguns estudos foram efetuados na área de cultura de tecidos. No entanto, até hoje não se chegou ao campo com mudas

sanitizadas para comparação em relação ao material tradicionalmente cultivado pelos agricultores.

Não há relatos oficiais de vírus infectando mandioquinha-salsa no Brasil, logo não há estudos relativos à identificação nem aos danos que eles podem estar causando.

Os objetivos deste trabalho foram:

- Estabelecer protocolo eficiente de cultivo in vitro para mandioquinha-salsa, com altas taxas de regeneração de ápices caulinares e de gemas apicais.
- Estabelecer metodologia para aclimatização de plantas obtidas a partir da cultura de tecidos.
- Avaliar a produção de plantas obtidas a partir da cultura de tecidos em comparação a plantas propagadas convencionalmente.
- Avaliar os índices de ocorrência de vírus no material propagado convencionalmente e no material obtido a partir da cultura de tecidos.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Mandioquinha-salsa

A mandioquinha-salsa é originária da América do Sul, da região andina compreendida entre Bolívia, Peru, Equador e Colômbia. Foi introduzida no Brasil no início do século 20 por oferta do general colombiano Rafael Uribe Uribe à então Sociedade de Agricultura, tendo os primeiros cultivos se estabelecido na Região Serrana do Estado do Rio de Janeiro. Disseminou-se pelos Estados do Paraná, Minas Gerais (maiores produtores atuais), Santa Catarina, Espírito Santo e São Paulo, entre outros, em regiões de clima ameno entre 800 e 1.500 m de altitude. Mais recentemente, a cultura expandiu-se para o Planalto Central, especialmente para o Distrito Federal, contrariando a idéia anterior de que era impossível seu cultivo nesta região (Santos, 1997a). Recebe os nomes regionais de mandioquinha (São Paulo e Sul de Minas Gerais), batata-baroa ou baroa (Rio de Janeiro, Zona da Mata de Minas Gerais, Espírito Santo e Distrito Federal), batata-salsa (Paraná e Santa Catarina), batata fiúza ou fiúza (microregião de Lavras, Minas Gerais), cenoura amarela (Campo das Vertentes, Minas Gerais), entre outros.

Segundo Pereira (2000), a mandioquinha-salsa faz parte do importante grupo de alimentos considerados energéticos, ricos em carboidratos. É fonte de cálcio, fósforo, ferro, vitaminas do complexo B, piridoxina-B<sub>6</sub>, niacina e riboflavina-B<sub>2</sub> (fator promotor de crescimento), vitamina A, vitamina C, proteínas e fibras. Possui alta digestibilidade e apresenta, ainda, propriedades diuréticas.

Por diversos fatores, constitui ótima alternativa para pequenos e médios produtores, especialmente dentro dos conceitos da agricultura familiar. Apresenta considerável demanda por mão-de-obra, principalmente nas fases de

plantio e colheita. Particularmente, o preparo de mudas e o plantio, operações que exigem critério e capricho especiais, limitam o cultivo de grandes áreas, considerando que o estande varia de 32 a 48 mil plantas por hectare. Portanto, essa grande exigência de mão-de-obra, o que poderia parecer um aspecto negativo, é na verdade um mantenedor da estabilidade de mercado e uma garantia de que a cultura ainda é uma das poucas alternativas para a pequena e média produção. É planta bastante rústica, com baixa utilização de insumos e reduzido custo de produção. Seu mercado é seguro e o efeito sazonal reduzido (Madeira, 2000a).

No Brasil, até 1998 observa-se que a mandioquinha-salsa de raízes amarelas se restringe a poucas cultivares, apesar das diferentes denominações - Amarela, Amarela de Carandaí ou Amarela Comum - em decorrência do reduzido número de clones introduzidos no país e do fato de a propagação ser vegetativa (Bustamante, 1994; Giordano et al., 1995). Inclusive, Soares (1991) cita que possivelmente no Brasil ocorra um único clone de mandioquinha-salsa de raízes amarelas em função da propagação assexuada tradicionalmente realizada por séculos.

O material mais cultivado no Brasil ainda é a cv. Amarela de Carandaí ou Amarela Comum, codificado pelo banco de germoplasma de hortaliças (BGH) da Universidade Federal de Viçosa (UFV) como BGH 5746, acesso coletado em Minas Gerais, e pelo banco de germoplasma da Embrapa Hortaliças como CNPH 90134, acesso coletado no Distrito Federal. Na verdade, não se trata de cultivar oficial, não tendo seus descritores reconhecidos e registrados. Está disseminada no país há cerca de um século, observando-se alguma variabilidade entre acessos de diferentes regiões apesar da denominação vulgar de Amarela Comum. Tem por características principais porte mediano (40 a 50 cm), folha verde, pecíolo verde claro, base do pecíolo verde avermelhado, raízes de coloração amarela, formato cônico-cilíndrico, com poucas reentrâncias e



xilema amarelo claro (Madeira, 2000a). Observa-se em campo, ainda, inserção das raízes na coroa de tamanho médio (1 a 1,5 cm), ápice radicular cônico e ciclo médio entre 9 a 11 meses.

A cultivar Amarela de Senador Amaral, única lançada oficialmente no Brasil, com seus descritores morfológicos reconhecidos, é fruto de um programa de melhoramento genético conduzido pela Embrapa Hortaliças. Tem se destacado em diversas regiões produtoras (Santos & Carmo, 1998; Lima et al., 1999; Carmo & Santos, 1999). A Amarela de Senador Amaral tem por características porte mediano (35 a 45 cm), folha verde escuro, pecíolo verde avermelhado, base do pecíolo violeta avermelhado, raízes de coloração amarela intensa, formato cilíndrico, com poucas reentrâncias e xilema amarelo (Madeira, 2000a). Observa-se em campo, ainda, diminuta inserção das raízes na coroa (0,5 a 1 cm), ápice radicular circular com bom fechamento e ciclo médio entre 7 e 8,5 meses.

Outros dois materiais são cultivados em escala comercial no Brasil. O primeiro é um clone de porte elevado (50 a 60 cm), reduzido número de filhotes ou propágulos, que são grandes e extremamente duros, folhas arroxeadas e raízes cônicas de coloração amarelo-creme. Foi provavelmente repassado para produtores a partir do BGH da UFV, sendo cultivado por alguns produtores da região de Ouro Branco e Conselheiro Lafayette, Minas Gerais. O segundo é um clone de porte muito elevado (70 a 90 c

m), folhas e pecíolo verde claro e raízes longas e cônicas de coloração branca.

Nas regiões onde é comum o cultivo da mandioquinha-salsa, o mercado é amplo em função da oferta inferior à demanda. Todavia, nas regiões Norte e Nordeste, na maior parte do Centro-Oeste e no Rio Grande do Sul, a mandioquinha-salsa é, para a maioria da população, desconhecida. É crescente a demanda por mandioquinha-salsa na forma de miniprocessados e como matéria-

prima para indústrias alimentícias na forma de sopas, cremes, pré-cozidos, alimentos infantis (papinhas), fritas fatiadas (chips) e purês. Com o processamento, abre-se uma nova oportunidade, a exportação, dificultada para o produto *in natura* em função da sua reduzida conservação pós-colheita. Adicionalmente, segundo Henz (2002), apresenta mercado cativo e crescente, gozando da reputação de ser produto saudável, condição que deve ser preservada e melhor explorada, adequando-se facilmente a sistemas orgânicos de produção em função de sua rusticidade.

Em 1998, a produção de mandioquinha-salsa foi estimada em 32.605 t, correspondendo a um valor de produção superior a R\$ 17,6 milhões (Accarini, 1999). Sabe-se, porém, que boa parte da produção é comercializada diretamente do produtor ao varejista, não passando pelas centrais de abastecimento e, conseqüentemente, não sendo computada em dados oficiais. Santos et al. (2000) apresentam dados detalhados de que, só no Paraná, a produção foi superior a 72 mil t produzidas, em 7.633 ha com produtividade média de 9.513 kg.ha<sup>-1</sup>, envolvendo diretamente cerca de 3.394 famílias. Profissionais que trabalham com a cultura estimam, no Brasil, área de cultivo anual superior a 20 mil hectares, com produtividade média em torno de 8 a 9 t.ha<sup>-1</sup>. Para que se tenha idéia da baixa produtividade, produções em torno de 20 a 25 t.ha<sup>-1</sup> são relativamente fáceis de se obter. Esta baixa produtividade é resultado da não adoção de práticas culturais básicas pela maioria dos produtores, como preparo e seleção de mudas, adubação e irrigação adequadas. É, portanto, cultura que apresenta grande carência com relação à tecnologia, devendo-se buscar profissionalização na produção. Nesse sentido, uma das áreas a ser desenvolvida é a produção de mudas selecionadas e com baixos níveis de doenças degenerativas.

## 2.2 Propagação de Mandioquinha-salsa

A propagação da mandioquinha-salsa é realizada por meio de filhotes, também ditos rebentos ou propágulos, que se formam na coroa (Bustamante, 1994), também chamada comumente por touça ou touceira (Figura 1).

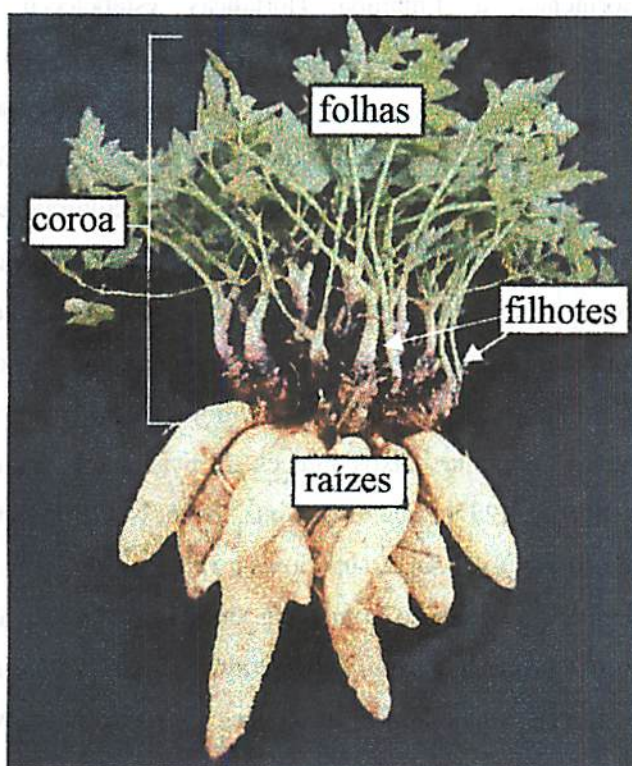


FIGURA 1: Plantas de mandioquinha-salsa produzidas nos meios B5 e MS, sem regulador de crescimento (0), com  $0,01 \text{ mg.L}^{-1}$  de ANA e com  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$  de ANA +  $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$  de BAP. Brasília/DF, Cenargen, 2000.

O plantio tradicional é realizado diretamente no local definitivo, utilizando-se mudas cortadas em bisel, eliminando-se, aproximadamente, metade da sua estrutura de reserva (Sediyama & Casali, 1997). Essa forma de plantio acarreta muitas falhas, desuniformidade de emergência e, conseqüentemente, desuniformidade também no ponto de colheita.

O enraizamento prévio de mudas em caixas de arcia sob elevada densidade para transplântio no local definitivo, chamado também por estratificação em caixas de arcia, foi primeiramente testado em Santa Catarina, obtendo-se ótimos resultados (Câmara, 1993).

Posteriormente, a Embrapa Hortaliças estabeleceu metodologia adequada ao enraizamento de mudas em canteiros, difundindo a técnica a produtores de diversas regiões, com a denominação de pré-enraizamento de mudas. Com esta técnica, elevou-se o índice de pegamento; uniformizou-se a emergência e o ponto de colheita; reduziram-se os tratos culturais na fase inicial; e praticamente se eliminou a ocorrência de florescimento precoce no campo definitivo, pois as mudas que pendoam ocasionalmente nos canteiros de pré-enraizamento são eliminadas. Permite, ainda, a seleção de mudas no transplântio e o escalonamento da produção em algumas regiões onde o plantio diretamente no local definitivo apresenta baixos índices de pegamento em determinadas épocas do ano (Santos, 1997b; Santos & Lima, 1996; Madeira, 2000b), quando as temperaturas são muito elevadas, superiores a 30°C.

Entretanto, a propagação comercial, exclusivamente vegetativa, pode propiciar a ocorrência de uma carga considerável de patógenos degenerativos, como bactérias, fungos, micoplasmas, riquétsias e, principalmente, vírus.

Há relatos de produtores de que a simples utilização de material propagativo de campo trazido de outra região, da mesma variedade cultivada anteriormente, pode melhorar a produção. Está claro que a mera troca não garante incremento produtivo, a não ser que se recorra a material de

determinadas regiões que, por suas condições climáticas, apresentem menor disseminação de viroses e de outras doenças degenerativas (Costa, 1984). O autor cita estes relatos, mas não chama a atenção para o conhecimento embutido em afirmações como esta, através das quais o produtor diz, sem conhecimento teórico mas de forma prática, que está ocorrendo degenerescência em sua variedade (sua planta), muitas vezes semelhante à de outro produtor, mas onde, por diversos fatores, dentre eles os climáticos e os de manejo cultural, pode não estar ocorrendo degenerescência na mesma taxa.

### 2.3 Vírus em Mandioquinha-salsa

Costa (1984) cita que na década de 70 fizeram-se testes com folhas de plantas de mandioquinha-salsa por inoculação mecânica em 20 espécies de plantas indicadoras, visando verificar a ocorrência de vírus. As amostras foram coletadas em Piedade, Estado de São Paulo, à época a principal região produtora de mandioquinha-salsa do Estado e uma das principais do Brasil. Nenhum sintoma foi observado. Também na mesma época, testou-se a recuperação de vírus de mandioquinha-salsa por meio de inoculações usando *Myzus persicae*, sem resultados positivos.

É comum encontrar plantas apresentando sintomas típicos de viroses, como mosaico, nanismo e deformação foliar. De acordo com relatos do Dr. Elliot Watanabe Kitajima, da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ, citados por Henz (2002), já foram constatadas, via microscopia eletrônica, inclusões do tipo “catavento”, típicas de potyvirus, em tecido foliar de mandioquinha-salsa com sintomas de mosaico cultivada em Brasília, DF.

Não há registro oficial de ocorrência de vírus em mandioquinha-salsa no Brasil, mas eles podem estar presentes causando degenerescência, reduzindo o potencial produtivo da planta (Madeira, 2000a; Santos et al., 2000; Henz, 2002).

Ainda que os materiais nacionais não estejam infectados, o que é improvável em virtude da característica de propagação vegetativa, o domínio da técnica de obtenção de mudas de mandioquinha-salsa com baixos níveis de doenças degenerativas asseguraria a produção para o caso da entrada de patógenos no país. Adicionalmente, a maior sanidade, vigor e homogeneidade de mudas, por si só, provavelmente irão assegurar incremento produtivo.

Nos países de origem, há relatos de alguns vírus infectando mandioquinha-salsa.

Jones & Kenten (1978) e Kenten & Jones (1979) descreveram, respectivamente, os nepovírus *Arracacha virus A* (AVA) e *Arracacha virus B* (AVB). O AVA é facilmente transmitido por inoculação mecânica a uma ampla gama de hospedeiros, mas naturalmente, a campo, só tem sido encontrado em mandioquinha-salsa. Em tentativas de transmissão do vírus pelo afídeo *Myzus persicae* não se obteve sucesso. Suspeita-se de que, provavelmente, a transmissão se dê por nematóides. Provoca sintomas de mosaico amarelo nas folhas jovens. Plantas infectadas naturalmente com o AVB somente não apresentam sintomas; porém quando ocorre infecção mista com AVA, os sintomas podem estar presentes, fazendo com que a infecção pelo AVB geralmente passe despercebida. O AVA já foi relatado no Peru e o AVB, no Peru e na Bolívia (Kenten & Jones, 1979; Figueira, 1995). Outro nepovírus infecta mandioquinha-salsa, o *Potato black ring spot virus - arracacha* (PBRV-A ou PBRV-A) (Lizárraga et al., 1994; Hermann, 1997).

Dois vírus do gênero carlavirus, *Arracacha virus 3* (AV-3) e *Arracacha virus 2* (AV-2), foram relatados no Peru, mas sua identificação e validação ainda estão incompletas (Henz, 2002). Vírus deste gênero são transmitidos ou

mecanicamente, ou por afídeos em uma relação do tipo não-persistente ou, no caso de alguns destes vírus, por sementes (Regenmortel et al., 2000).

Dois vírus do gênero *Potyvirus* infectam mandioquinha-salsa, o *Arracacha potyvirus I* (AP-1) e o *Arracacha potyvirus Y* (AVY). Segundo Regenmortel et al. (2000), induzem à produção de inclusões celulares do tipo catavento. São transmitidos mecanicamente e por afídeos em uma relação de transmissão do tipo não persistente.

Em uma amostra de 40 plantas de 10 acessos equatorianos de mandioquinha-salsa, Lizárraga (1997) encontrou infecções virais simples e múltiplas em 77% das plantas, sendo os vírus AP-1 e AV-3 os mais frequentes, com incidência de 53 e 38%, respectivamente.

Ainda não está muito claro como estes vírus afetam as plantas de mandioquinha-salsa e sua produção. A exemplo do que ocorre com outras hortaliças propagadas vegetativamente, como batata, morango, alho e batata-doce, plantas de mandioquinha-salsa infectadas por vírus podem apresentar menor desenvolvimento e produção em relação a plantas saudias, livres de vírus.

Na verdade, antes do advento da tecnologia de produção de plantas livres de vírus, era impossível avaliar o efeito da utilização de plantas sanitizadas. Carvalho (1986) escreveu que, em decorrência da transmissão via bulbilhos e do acúmulo de vírus, as cultivares de alho no Brasil, talvez sem exceção, acumularam vírus de tal forma que, quando se dispuser de clones aviróticos destas cultivares, os agricultores e os consumidores acreditarão tratar-se de uma nova cultivar, tal o vigor vegetativo das plantas e o conseqüente aumento no tamanho dos bulbos. Isso porque à época não se havia obtido plantas livres de vírus, nem sequer identificado quais vírus infectam alho e os níveis de danos causados por eles, permanecendo desconhecido o potencial produtivo das cultivares tradicionalmente utilizadas pelos alicultores.

A colocação feita por Carvalho (1986), apesar de obsoleta para alho, expressa perfeitamente o que pode estar ocorrendo com a mandioquinha-salsa.

Em um futuro próximo, é imprescindível realizar levantamento sistematizado da ocorrência de vírus em mandioquinha-salsa, com técnicas adequadas de detecção. Sua identificação permitirá a adoção de medidas de controle, evitando sua disseminação. Vírus em mandioquinha-salsa podem ser de grande importância em vista de a propagação ser vegetativa e do intercâmbio de materiais entre as diversas regiões produtoras do Brasil.

#### **2.4 Obtenção de Plantas Livres de Vírus**

Existem algumas formas de obter plantas livres de vírus. Primeiramente, pela propagação seminífera, que atua como um filtro para a maioria dos vírus. Também se pode obter plantas livres de vírus pela cultura de tecidos, mais especificamente pela cultura de ápices caulinares (meristemas mais primórdios foliares), por vezes erroneamente chamada cultura de meristemas. Finalmente, outras técnicas disponíveis são a termoterapia, a quimioterapia e a eletroterapia, normalmente utilizadas em associação à cultura de tecidos (Torres et al., 1998).

Em sua grande maioria, os vírus não são transmitidos pelas sementes botânicas. Portanto, é possível obter plantas livres de vírus provenientes de plantas infectadas utilizando suas sementes como fonte de propagação. Entretanto, Ishikawa (1985), trabalhando com batateira, cita que a propagação sexuada só tem interesse para o melhoramento genético, em vista da heterozigose e conseqüente segregação da progênie. Em mandioquinha-salsa ocorre o mesmo. Além disso, mandioquinha-salsa é planta alógama e tetrapóide (Hermann, 1997). Em função da alogamia, verifica-se endogamia quando ocorre auto-fecundação, provavelmente pela expressão de genes degenerativos com



conseqüente baixo vigor da progênie (Bustamante, 1994), enquanto a tetraploidia aumenta as possibilidades de combinações alélicas, o que, por um lado, aumenta a variabilidade, mas, por outro, aumenta a probabilidade de expressão de genes degenerativos.

O programa de melhoramento genético em mandioquinha-salsa realizado pela Embrapa Hortaliças desde 1985, culminou com o lançamento da cultivar Amarela de Senador Amaral em 1998. Possivelmente, a superioridade desta cultivar se deve ao processo de propagação seminfera. É plausível que a propagação sexuada do clone comumente cultivado, o Amarelo Comum, a partir do qual se originou a cv. Amarela de Senador Amaral, tenha levado à obtenção de um material que, além de diferenciado geneticamente da planta matriz que o gerou, esteja ainda livre de vírus ou com baixa concentração viral. O material foi selecionado pelas características de interesse comercial (formato e coloração de raízes, produtividade e precocidade), mas provavelmente a expressão plena destas características só foi possível em função da baixa carga viral presente. Se esta hipótese for verdadeira, pode estar havendo reinfestação gradual e conseqüente processo degenerativo, o que pode reduzir a produtividade da Amarela de Senador Amaral em locais com grande pressão de inóculo.

Observa-se hoje, seis anos após o lançamento da Amarela de Senador Amaral, em algumas regiões produtivas onde a pressão de inóculo é intensa, que a superioridade em produtividade já não é tão marcante como no primeiro e segundo plantios (Darley Gonçalves Rosa, produtor em Senador Amaral, MG; Silvana Catarina Bueno, extensionista e pesquisadora da Coordenadoria de Assistência Técnica Integral do Estado de São Paulo – CATI-SP – infomações pessoais). Isso ocorre em função do manejo, como plantio lado a lado de material possivelmente infectado e não tratamento das mudas, e do clima, pelo favorecimento da elevação da população de vetores. Segundo relatos do Dr. Fausto Francisco dos Santos, pesquisador dedicado à cultura há quase duas

décadas, no município de Angelina, Estado de Santa Catarina, a cultura foi introduzida há poucos anos, cultivando-se quase que exclusivamente a cv. Amarela de Senador Amaral. Isso cria um efeito de isolamento, visto que, mesmo na presença de vetores, o inóculo é reduzido, o que se reflete na manutenção de elevados níveis de produtividade ao longo do tempo.

A cultura de tecidos, mais especificamente a cultura de ápices caulinares e sua micropropagação, é técnica que consiste em reproduzir plantas a partir de tecidos livres de patógenos. A eficiência deste processo é aumentada quando as plantas matrizes são, anteriormente à excisão dos ápices caulinares, submetidas à termoterapia (Conci & Nome, 1991). Após a fase de desenvolvimento *in vitro*, as plantas obtidas são aclimatizadas, isto é, passam por um processo de adaptação às condições ambientais. São, posteriormente, indexadas, descartando-se plantas que se apresentem infectadas por doenças. O material que reagiu negativamente aos testes sanitários é então multiplicado sob condições controladas (Daniels, 1977; Conci et al., 1986; Conci & Nome, 1991).

Para a obtenção de plantas saudáveis a partir de material infectado, usa-se a cultura de ápices caulinares, isto é, meristema mais um ou dois primórdios foliares, associada ou não à quimioterapia ou à termoterapia. Esta metodologia permite rápida multiplicação do material vegetal, produzindo plantas saudáveis a partir de um único indivíduo em curto período de tempo, independentemente de local e estação do ano (Souza & Souza, 1986).

Limasset & Cornuet, citados por Bonin (1988), demonstraram que as partículas virais em plantas infectadas sistemicamente não estão uniformemente distribuídas e que a concentração viral decresce da base para o ápice da planta, especialmente nas regiões meristemáticas de ativo crescimento.

Segundo Lizárraga et al. (1991), a distribuição de vírus dentro da planta varia muito, e nem todas as células de uma planta enferma encontram-se infectadas. Os tecidos meristemáticos de raízes e brotos terminais de uma planta

virótica estão, algumas vezes, livres de vírus. Estudando o *Potato virus X* (PVX) em batateira, somente a cúpula meristemática e os primeiros primórdios foliares encontram-se livres deste vírus.

Desconhece-se a razão exata para esse fato, porém há pelo menos três hipóteses para explicá-lo, as quais podem estar atuando simultaneamente. Primeiramente, a intensa atividade metabólica na região meristemática. Os vírus multiplicam-se acompanhando o curso do metabolismo do hospedeiro; entretanto, eles não conseguiriam acompanhar o ritmo metabólico nesta região. Em segundo, a carência de tecido vascular organizado na região meristemática, visto que as células ainda não estão diferenciadas. Portanto, se os vírus disseminam-se rapidamente através do sistema vascular, a região meristemática estaria isenta deste processo. Os vírus que infectam tecidos não vasculares disseminam-se de uma célula para outra através dos condutos intercelulares (plasmodesmos); contudo, este processo é lento, o que provavelmente inviabiliza a infecção de tecidos meristemáticos, já que esses estão com intensa síntese protéica e processo de divisão celular. Finalmente, a alta concentração de auxinas nos tecidos meristemáticos pode, segundo alguns autores, inibir a multiplicação dos vírus (Lizárraga et al., 1991).

Luz et al. (1997) citam que a cultura de ápices maiores que o meristema pode ser suficiente para garantir a limpeza de patógenos como nematóides, bactérias e fungos, uma vez que em condições de cultivo eles são facilmente detectados no meio de cultura. Entretanto, para micoplasmas, vírus e viróides, que utilizam o sistema vital da planta para sua multiplicação, esses podem ser mantidos nos propágulos vegetativos, comprometendo a qualidade do clone. Para obter plantas livres de vírus, utiliza-se a cultura de meristemas, com tamanho máximo de até 1mm, com um ou dois primórdios foliares.

Em condições ótimas de cultivo, o tamanho do explante é fator determinante na capacidade regenerativa de plantas livres de vírus. A

sobrevivência e a posterior regeneração de meristemas aumentam à medida que se aumenta o tamanho do explante. Contudo, porções com tamanho superior a 0,5 mm de comprimento diminuem as chances de obtenção de plantas livres de vírus. A presença de primórdios foliares aumenta as taxas de regeneração e facilita o desenvolvimento radicular (Bonin, 1988).

De acordo com Graichen et al. (1988), as variações no estágio de desenvolvimento das folhas primárias que recobrem o meristema e, em última instância, a habilidade e a prática humana de extração de meristemas, proporcionam taxas variáveis de eliminação de vírus entre diferentes clones, ainda que de uma mesma cultivar. Trabalhando com alho, Resende et al. (1995) observaram ampla variação na produtividade e no peso médio de bulbos entre clones de uma mesma cultivar, a Gigante Roxo, obtidos a partir da cultura de meristema, atribuindo as diferenças observadas a variações na taxa de eliminação de vírus.

Embora plantas obtidas através de cultura de meristema tenham alta fidelidade fenotípica e, normalmente mantenham a identidade e a estabilidade genética, variação somaclonal pode ocorrer em função da manutenção destas plantas por longo período em sucessivos cultivos *in vitro* em meio de cultura, principalmente quando esses são enriquecidos com reguladores de crescimento. É, portanto, recomendável que se efetuem, periodicamente, novos isolamentos (Grattapaglia & Machado, 1990).

A cultura de ápices caulinares tem êxito não só em programas para propagação de material sadio, mas também auxilia no intercâmbio de germoplasma, garantindo a sanidade do material e minimizando a possibilidade de transmissão de patógenos exóticos a uma determinada região ou país (Assis, 1999b).

De forma geral, patógenos virais têm sido considerados os mais importantes na regulamentação de troca internacional de germoplasma. Isso

porque, por serem parasitas intracelulares, não podem ser eliminados simplesmente por tratamento químico e cultura de gemas esterilizadas, exigindo a cultura de ápices caulinares, por vezes associada à termoterapia (Caldas et al., 1998).

Fletcher & Fletcher (2001) citam que acessos de três espécies de raízes andinas, oca (*Oxalis tuberosa*), ulluco (*Ullucus tuberosus*) e mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*), foram importados pela Nova Zelândia, permanecendo sob quarentena. Usando os métodos Elisa - Membrana Nitrocelulose, plantas hospedeiras e microscopia eletrônica, verificou-se a infecção dos materiais por vírus, no caso da mandioquinha-salsa, com o AVA. De modo a atender as exigências da quarentena, os vírus tiveram que ser eliminados. Obteve-se sucesso na eliminação do vírus AVA em mandioquinha-salsa por meio de um protocolo *in vitro* associado a termo e quimioterapia. Gemas apicais foram estabelecidas em meio de cultura contendo 50 mg.L<sup>-1</sup> de ribavirina. Os explantes foram previamente submetidos a 10 dias contínuos de termoterapia, alternando 4 horas a 35° C com luz e 4 horas a 31° C no escuro, estando ao final desse período com gemas alongadas, com cerca de 1 cm de comprimento, prontas para excisão. As plantas desenvolveram-se em sala de crescimento a 24° C, luz fluorescente e fotoperíodo de 16 horas. As plantas desenvolvidas foram então levadas a casas de vegetação para aclimatização e posteriores ensaios e avaliações a campo, de modo a se introduzir no país material livre do vírus AVA.

## 2.5 Cultura de Tecidos em Mandioquinha-salsa

Alguns trabalhos já foram realizados na área de micropropagação de mandioquinha-salsa no Brasil e no exterior.

Senna Neto (1990) testou diferentes meios de cultura de tecidos e concentrações de fitorreguladores com a finalidade de induzir à diferenciação de explantes de mandioquinha-salsa. Os binômios tempo x concentração mais eficientes para a desinfestação dos explantes foram 10, 15 ou 20 minutos de imersão em solução de hipoclorito de sódio a 0,6 ou 0,9%. O material utilizado foi o clone BGH 5746, uma população da cultivar Amarela de Carandaí, ou Amarela Comum, e os explantes foram meristemas apicais mais dois primórdios foliares. Testaram-se, ainda, segmentos de folhas, pecíolos e raízes. Avaliaram-se os meios de cultura de Gamborg, MS, Knudson e White, concluindo-se que estes três últimos meios não foram eficientes para promover crescimento e desenvolvimento de plantas e de fragmentos de calos que tiveram crescimento inicial em outros meios de cultura. Segmentos de folhas, pecíolos e raízes não foram regenerados em nenhum dos quatro meios de cultura testados. O autor obteve indução à regeneração de meristemas no meio de Gamborg, sendo que o melhor desenvolvimento de plantas foi obtido com o uso de  $0,02\text{mg.L}^{-1}$  de ANA (ácido naftalenoacético) +  $0,1\text{mg.L}^{-1}$  de BAP e de  $0,02\text{mg.L}^{-1}$  de ANA +  $0,2\text{mg.L}^{-1}$  de BAP, verificando, aos 107 dias, plantas com parte aérea mais desenvolvida e maior número de raízes, inclusive com pequenas raízes de reserva. Reduzidas concentrações de ANA e baixas proporções de ANA/BAP ( $0,01$  e  $0,02 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $0,6$ ,  $1,0$  e  $1,4 \text{ mg.L}^{-1}$ , respectivamente) no meio de Gamborg promoveram desenvolvimento lento e irregular. No meio Knudson, líquido, houve paralisação do crescimento. Nos meios MS e White o crescimento foi muito lento e irregular, com ausência de folhas expandidas e presença de folhas pontiagudas. O autor obteve os melhores resultados com

meio de Gamborg, 0,02 mg.L<sup>-1</sup> ANA + 0,1- 0,2 mg.L<sup>-1</sup> BAP para o desenvolvimento do sistema radicular e 0,1- 0,2 mg.L<sup>-1</sup> BAP para o desenvolvimento da parte aérea.

Castillo (1991) cita a existência de alguns problemas para o cultivo in vitro de mandioquinha-salsa, entre eles a elevada contaminação dos explantes por bactérias endógenas, levando a que se faça o tratamento com bactericidas, prática pouco recomendada por ser reconhecidamente promotora de mutações. O uso de plantas matrizes fornecedoras de explantes cultivadas em casas de vegetação pode reduzir este problema. O autor verificou, ainda, rápida formação de calos nos explantes, aspecto não desejado também por ser promotor de modificações genéticas e por exaurir os nutrientes em detrimento da formação de folhas e raízes. Para minimizar este problema, o autor recomenda que se realizem micropropagações sucessivas, formando plantas normais, devendo-se, neste caso, utilizar frascos largos, como majentas, permitindo melhor crescimento das plantas.

De acordo com Grattapaglia & Machado (1990), a ocorrência de calos na base das plantas pode ocorrer em consequência da elevada concentração de auxinas no meio de cultivo, comprometendo o desenvolvimento das raízes e da parte aérea.

De acordo com Castillo (1991), para a fase de introdução in vitro, pode-se utilizar o meio MS (Murashige e Skoog, 1962) adicionado de sacarose a 3%, ágar a 0,8%, 2 mg.L<sup>-1</sup> de sulfato de adenina e 2 ppm de pantetonato de cálcio e dos reguladores de crescimento GA<sub>3</sub> (ácido giberélico) a 0,25 ppm + AIA (ácido 3-indolacético) a 0,05ppm ou BAP (6-benzilaminopurina) a 5 mg.L<sup>-1</sup> + AIB (ácido indolbutírico) a 0,05 mg.L<sup>-1</sup> ou GA<sub>3</sub> a 0,25 ppm + AIA a 0,05 ppm + BAP a 0,01 ppm. No entanto, deve-se estudar com maior profundidade a conservação in vitro no caso de manutenção de germoplasma.

Segundo Cevallos & Castillo (1991), avaliando a resposta da introdução in vitro de oito linhas de mandioquinha-salsa, o melhor meio de cultivo foi o MS + 0,25 ppm GA<sub>3</sub> + 2 ppm de pantotenato de cálcio + 0,05 ppm de AIA + 3 % de sacarose + 0,8 % de ágar. Para multiplicação, os melhores meios foram MS + 5 mg.L<sup>-1</sup> de tiamina + 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de ácido nicotínico + 0,05 ppm ABA + 2 % de sacarose + 0,8 % de ágar. Os autores observaram, ainda, que explantes menores que 4 mm apresentam crescimento limitado e que a resposta foi diferenciada entre os genótipos.

Duque (1993) recomenda, como meio de cultivo mínimo in vitro para mandioquinha-salsa, 4,6 g de meio MS adicionado de 0,25 ppm de GA<sub>3</sub>, 2 ppm de pantotenato de cálcio, 0,25 ppm de AIA, de sacarose a 3% e de ágar a 0,8%, a um pH final de 5,7.

Luz (1993), visando obter plantas de mandioquinha-salsa isentas de vírus a partir de cultura de meristemas, realizou três experimentos em meio de cultivo B5: um de cultura de meristemas, outro de multiplicação e outro de enraizamento. Foram extraídos meristemas de plantas selecionadas, obtendo-se melhor desenvolvimento com a combinação de 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA + 0,2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP acrescido ao meio de cultivo. Para multiplicação, o autor testou brotos com uma folha e touceiras com 3 a 5 folhas. Os melhores resultados para multiplicação foram conseguidos em touceiras com 0,1 e 0,2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP.

Pessoa et al. (1994) tomaram seções de pecíolos jovens com 5mm de plantas da cv. Amarela Comum com oito semanas e cultivadas em meio MS, adicionado de 2.3 µM de 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) somente ou 2.3, 4.5 ou 8.9 µM de 2,4-D + 1.1 ou 8.9 µM de BA (6-benziladenina). As plantas foram então mantidas a 25°C no escuro ou sob fotoperíodo de 16 horas por 4 semanas antes do subcultivo para um meio básico. Todos os tratamentos apresentaram abundante formação de calos após 3 semanas. Os ápices caulinares foram colocados em solução nutritiva com reguladores de crescimento,



resultando na indução à formação de raízes nas porções basais em 19% dos explantes. Após a inoculação em meio de cultura, o material foi colocado em sala de crescimento. Posteriormente ao desenvolvimento in vitro, as plantas foram aclimatizadas em casa de vegetação, passando para as condições in vivo.

Na fase de aclimatização podem acontecer insucessos que estão relacionados à elevada taxa transpiratória, à passagem da condição heterotrófica para autotrófica, à perda de condição de alta disponibilidade de nutrientes e, ainda, à perda do ambiente asséptico (Luz, 1993).

Utilizando substrato terra:areia:vermiculita na proporção 1:1:1 em peso, Senna Neto (1990) transferiu 13 plantas completas e oito sem sistema radicular aos 107 dias após a introdução in vitro, quando algumas plantas apresentavam inclusive raízes de reserva. Até o 14º dia ocorreu a morte de todas as plantas, sem que houvesse enraizamento ou desenvolvimento foliar.

Luz (1993) obteve aclimatização de 65,5 % de plantas, isto é, 19 plantas de um total de 27, utilizando substrato comercial Plantmax® esterilizado, irrigação e cobertura com sacos de polietileno em ambiente com temperatura de 26° C e luz a 70 %, transferindo-as após 10 a 15 dias para telado e, finalmente, para vasos.

## **2.6 Limpeza Clonal a partir da Cultura de Tecidos**

Em um programa de limpeza clonal, a etapa seguinte à obtenção de plantas de mandioquinha-salsa obtidas a partir da cultura de meristemas ou de ápices caulinares é a indexação para vírus.

Praticamente, nenhum vírus provoca sintomas no cultivo in vitro, sendo, por isso, fundamental monitorar os materiais pré-básicos com testes de alta sensibilidade (Ávila & Beek, 1987).

A indexação do material obtido a partir da cultura de tecidos pode ser feita por diferentes técnicas, testes sorológicos, microscopia eletrônica ou pelo uso de plantas indicadoras. Como exemplo de indexação por testes sorológicos, tipo Elisa, tem-se a batata (Assis, 1999a); por microscopia eletrônica, o alho (Torres et al., 2001); e pelo uso de plantas indicadoras, o morango, em que se usa enxertia em *Fragaria vesca* (Teixeira, 1988), e a batata-doce, em que a indicadora é *Ipomoea setosa* (Love et al., 1987).

O teste Elisa (Enzyme-linked Immunosorbent Assay), comumente utilizado em batata (Assis, 1999a) e outras culturas, tem por vantagens a alta sensibilidade e a possibilidade de testar grande número de amostras em curto espaço de tempo (Figueira, 2000). Por outro lado, é específico. Portanto, há que se dispor do anti-soro para o vírus a ser testado, o que muitas vezes não ocorre (Dusi, 1989).

A utilização de plantas indicadoras é técnica muito sensível e de baixo custo; todavia, apresenta o inconveniente de demandar muito tempo e espaço, tornando-se inviável quando se trata de um grande número de amostras a serem testadas (Ávila & Beek, 1987).

No caso da mandioquinha-salsa, porém, a inoculação mecânica em círculo de hospedeiros pode ser eficiente para testar plantas matrizes básicas, fornecedoras de explantes para a multiplicação de plantas matrizes F1, filhas de plantas matrizes básicas. Especificamente para os principais vírus relatados infectando mandioquinha-salsa, AVA, AVB, AP-1, AV-3 e PBRSV, pode-se trabalhar com testes sorológicos, desde que se disponha de anti-soro.

No desenvolvimento de um programa de saneamento de mudas de mandioquinha-salsa através do cultivo *in vitro*, deve-se trabalhar com as melhores cultivares disponíveis, em produtividade e qualidade, de modo a maximizar o potencial produtivo da cultura.

Aspecto que deve ser considerado em um programa de produção de mudas sanitizadas é a taxa de reinfecção no campo por patógenos degenerativos, fazendo com que o incremento produtivo inicialmente observado seja reduzido a níveis que inviabilizem economicamente a técnica. Portanto, é importante avaliar o número de gerações até quando o material obtido a partir do cultivo in vitro pode ser reutilizado com lucratividade. Para tanto, é imprescindível que se efetue, paralelamente, a caracterização dos vírus que infectam a cultura, que se desenvolvam ferramentas para a diagnose rápida destes vírus, e ainda, que se estabeleçam padrões para a certificação de mudas.

Lunello et al. (2001), de modo a viabilizar economicamente o uso de alho livre de vírus, citam que a multiplicação de material livre de vírus deve ser feita em regiões isoladas de outros cultivos ou de plantas hospedeiras dos vírus que infectam a cultura. Assim, mesmo com a presença de vetores, não haverá fonte de inóculo. Quando, posteriormente, este material for levado às regiões produtoras, certamente ocorrerá a reinfestação gradual. Contudo, no caso do alho, esta reinfestação não ocorre abruptamente, permitindo aos produtores que melhorem seus rendimentos em até 70% inicialmente, caindo com o passar dos anos.

A grande causa de reinfecção no campo, considerando o cultivo de materiais isentos de vírus, reside na presença de população de vetores e de fonte de inóculo, plantas hospedeiras infectadas (seja da espécie comercial em questão, seja de planta espontânea hospedeira).

De acordo com Melo Filho (2003), falando de alho, o controle de vírus é dificultado devido à propagação vegetativa e às peculiaridades no processo de transmissão. Em condições naturais, a doença ocorre pelo uso de material propagativo contaminado e a transmissão por meio de vetores, principalmente afídeos. A pulverização com inseticidas é ineficiente porque os pulgões vetores de vírus pertencentes aos gêneros *Potyvirus* e *Carlavirus* os adquirem de forma

não-persistente, durante vôos de reconhecimento em picadas de prova, podendo transmiti-los em poucos segundos, antes que morram em decorrência da ingestão do produto. Como medida preventiva para o controle de viroses, a principal prática é a utilização de material propagativo certificado. No campo, deve-se eliminar restos culturais contaminados e controlar as plantas daninhas hospedeiras de afídeos próximas à lavoura.

A seguir, apresentam-se algumas culturas em que se tem trabalhado com o objetivo de obter plantas sanitizadas, plantas matrizes de alta qualidade fisiológica e fitossanitária a partir da cultura de tecidos.

Na cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.) é prática estabelecida a produção de batata-semente com alta qualidade genética, fisiológica e fitossanitária, com baixos índices de vírus e bactérias sistêmicas que causam sua degenerescência (Assis, 1999a). Ávila & Beek (1987) citam a existência de pelo menos 25 vírus infectando a batateira. As referências com relação às perdas oscilam entre 35 e 90 % na produtividade, conforme as condições climáticas, a carga viral e a suscetibilidade das cultivares testadas (Centro Internacional de la Papa - CIP, 1983; Câmara et al., 1986; Castro & Daniels, 1991; Márton et al., 1993).

A bataticultura atual tem por base a pureza do material e a adoção de práticas culturais que minimizam a contaminação no campo. Inicialmente, a partir de tecidos meristemáticos são produzidos microtubérculos in vitro (semente genética). Estes são cultivados em casas de vegetação, em canteiros elevados de alvenaria ou em hidroponia, sob rigoroso controle sanitário, produzindo a semente pré-básica que, por sua vez, é multiplicada em campos isolados, sob manejo específico, por alguns ciclos. Em ordem decrescente de sanidade, a batata-semente pode assumir as classificações: básica, registrada e certificada (subclasses A e B), segundo normas pré-estabelecidas (Ministério da Agricultura, 1989). Nos principais Estados produtores nacionais existem

programas de certificação de semente. Para garantia de manutenção dos baixos índices de ocorrência de vírus e certificação da batata-semente, realizam-se testes sorológicos do tipo DAS-ELISA em larga escala, com resultados rápidos e seguros, pela alta sensibilidade, descartando-se as plantas que apresentaram resultado positivo (Assis, 1999a). Segundo Souza-Dias (2001), o sustentáculo da bataticultura moderna no Brasil é a batata-semente de alta sanidade, com baixos índices de contaminação por vírus.

Em morango (*Fragaria x ananassa* Doch), as doenças viróticas devem ser controladas preventivamente pela aquisição de plantas matrizes livres de vírus. No Brasil existem viveiristas especializados na produção de mudas de morangueiro a partir de matrizes isentas de vírus. A termoterapia associada à micropropagação de meristemas permite a obtenção de mudas saudáveis. Nos viveiros, as plantas matrizes, após a fase *in vitro*, são mantidas em casas de vegetação protegidas por tela anti-afídica. Efetua-se rigoroso controle sanitário (Assis, 1978; Groppo e Tessaroli Neto, 1993; Betti, 1996; Dias, 1999).

De acordo com Dias (1999), a diagnose com relação à presença de vírus deve ser feita por meio de inoculação e/ou enxertia de folhas infectadas em plantas indicadoras. Estas plantas são, na maioria dos casos, clones de morangueiro que reagem especificamente para cada vírus ou combinação de vírus.

A produção de mudas de morangueiro modernizou-se sobremaneira nos últimos anos. Têm sido cada vez mais empregadas mudas produzidas em biofábricas pelo processo de cultura de meristemas e micropropagação, seguida de aclimatização em ambientes isolados em casas de vegetação sob condições controladas (Assis, 1999b). O uso de mudas sanitizadas contribuiu enormemente para a elevação da produtividade e do padrão de qualidade, assim como para a redução do uso de agroquímicos pela maior sanidade e vigor das mudas.

Com relação à cultura do alho (*Allium sativum* L.), tanto no Brasil quanto em outras partes do mundo, tem sido reportado que as cultivares comerciais de alho encontram-se infectadas por um complexo viral, verificando-se sua degenerescência (Carvalho, 1986; Walkey et al., 1987; Pavan et al., 1989; Conci & Nome, 1991; Conci et al., 1992; Resende, 1993; Dusi et al., 1994; Myers et al., 1997).

Conci & Nome (1991) e Torres et al. (2001) descrevem a metodologia para obtenção de plantas a partir de meristemas cultivados *in vitro* e a aclimatização em telados. Dusi (1989) validou a metodologia para indexação do material no cultivo *in vitro* e no telado, utilizando testes serológicos e inoculação em plantas indicadoras.

Com relação ao desempenho agrônômico, no Brasil e no exterior foram observados desempenhos semelhantes em relação à superioridade do material proveniente de cultura de tecidos, com ganhos de até 138% para produtividade e 145% para peso médio de bulbos (Garcia et al., 1989; Walkey Dusi (1989 Antill, 1989; Resende, 1993; Siqueira, 1997; Fajardo, 1998; Tanabe, 1999; Melo Filho, 2003; Siqueira et al., 2003). Deve-se salientar que os trabalhos que utilizaram material indexado apresentam maior segurança com relação aos resultados obtidos.

Está comprovada a eficiência do alho-semente com alta qualidade sanitária obtido a partir da cultura de tecidos. O entrave para o estabelecimento de um amplo programa de produção de alho-semente certificado é o custo de produção, que é alto em função das baixas taxas de multiplicação, inicialmente de até 3,5:1 na fase de multiplicação *in vitro* (Torres et al., 2001; Garcia Dusi (1989 Bima, 2003), atingindo 7:1 a 10:1 nas multiplicações em telados ou em campo aberto (Peters et al, 1989a; Dusi et al., 2003). As multiplicações em telados ou em campo aberto, inclusive, só podem ser realizadas, por questões climáticas, uma vez ao ano. Portanto, um sistema de produção de bulbilhos-

semente requer tempo e investimentos consideráveis. Deve-se multiplicar o alho-semente advindo de laboratório com alta qualidade fitossanitária em áreas isoladas de outros cultivos de aliáceas e sob rigoroso controle de plantas daninhas hospedeiras de vírus que infectam alho, de modo a ocorrer baixa pressão de inóculo e, conseqüentemente, baixas taxas de reinfestação. A multiplicação em campo nestas condições é a alternativa para reduzir custos, podendo viabilizar a tecnologia, aumentando o número de gerações com lucratividade satisfatória. Para tanto, é imprescindível que se estabeleçam normas para a certificação do alho-semente.

Em batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam), há relatos de perdas de até 90% na produtividade comercial de batata-doce em decorrência da degenerescência do material cultivado (Brioso et al., 1989; Ngeve, 1990; Silva et al., 1991; Pozzer, 1993; Kitajima Dusi (1989 Pozzer, 1995). A obtenção de ramos de batata-doce livres de vírus através da cultura de meristema associada ou não à termoterapia já foi estudada (Peters et al., 1989b; Carvalho Dusi (1989 Leal, 1990), verificando-se incrementos produtivos de até 168% pelo uso desta tecnologia.

Os ganhos de produtividade pelo uso de ramos sadias, no entanto, caem rapidamente nos plantios sucessivos, sendo que após um ou dois ciclos de produção em campo não se verificam diferenças significativas entre material proveniente de cultura de tecidos e material propagativo convencional (Carvalho Dusi (1989 Leal, 1990; Pozzer, 1993; Pozzer et al., 1994). Em contrapartida, em áreas isoladas, Pozzer et al. (1992), Reis (1995) e Cecílio Filho et al. (1998) obtiveram superioridade produtiva, mesmo após dois ou três anos de exposição ao campo.

Torres et al. (1996) apresentam protocolo eficiente para a obtenção direta e rápida de plantas de batata-doce livres de vírus, sem formação de calo a partir de ápices caulinares com um primórdio foliar. As plantas foram indexadas

via enxertia em *Ipomoea setosa* e por microscopia eletrônica, sendo que, de um total de 60 plantas, 71% apresentaram-se livres de vírus.

A utilização de ramos de batata-doce livres de vírus é técnica eficiente, ainda mais se considerarmos a extrema facilidade de multiplicação *in vitro* e *in vivo* do material obtido a partir de plantas saudáveis, com taxas de 600:1 (Peters et al., 1989b) em quatro meses, reduzindo custos. Acontece, porém, que a cultura é caracteristicamente realizada em pequenas unidades produtivas que praticam o policultivo. Portanto, nas condições de produção da maioria dos produtores, a tecnologia pode não ser viável em função da rápida reinfestação a campo. Entretanto, se houver isolamento da cultura, o que se mostrou relativamente eficiente, e com o controle de plantas espontâneas hospedeiras do vírus, principalmente as convolvuláceas, a técnica pode ser viável.

Lizárraga et al. (1999) apresentaram trabalho desenvolvido com ulluco, um tubérculo andino, pelo Centro Internacional de la Papa (CIP), citando que este tubérculo pode servir como fonte de inóculo de importantes vírus que infectam batata e mandioca-salsa. Utilizando plantas matrizes livres de vírus, os autores verificaram incremento produtivo entre 37 e 62%, além do efeito de proteção a culturas de maior importância econômica pela redução da fonte de inóculo. Observaram, ainda, reduzida reinfestação após um ciclo de exposição no campo, indicando que a produção de plantas matrizes livres de vírus pode ser viável.

Portanto, em culturas de propagação assexuada, o uso de material propagativo oriundo do cultivo *in vitro* com alta qualidade sanitária é tecnologia que proporciona incrementos produtivos significativos.



## MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho são apresentados 10 experimentos, seis relativos ao desenvolvimento *in vitro* de mandioquinha-salsa (1.1 a 1.6), dois à aclimatização de plantas obtidas a partir da cultura de tecidos (2.1 e 2.2) e dois ao desenvolvimento *in vivo* (3.1 e 3.2). Além disso, no item 4 são apresentados os trabalhos relativos a vírus.

No experimento 1.1, foram testadas as combinações entre meios de cultura e reguladores de crescimento encontradas em literatura que apresentaram os melhores resultados para o desenvolvimento *in vitro* de mandioquinha-salsa, comparando-se o meio B5, recomendado por Senna Neto (1990) e Luz (1993), ao meio MS, recomendado por Cevallos & Castillo (1991) e Duque (1993).

No experimento 1.2, testou-se o meio MS a 50%, visto que, pelo resultado do experimento anterior, levantou-se a hipótese de que este meio pudesse estar com concentração de sais acima do ideal para mandioquinha-salsa, à semelhança do que ocorre com plantas consideradas rústicas, como o ginseng brasileiro e a samambaia-espada, em função da baixa exigência nutricional que apresentam (Guimarães et al., 1999; Russowski & Nicoloso, 2003). Avaliou-se, ainda, outro tipo de auxina, em comparação com a utilizada anteriormente.

No experimento 1.3, após determinado um meio de cultura com elevada taxa de regeneração para gemas apicais, trabalhou-se com tamanho de explante.

Os experimentos 1.4, 1.5 e 1.6 objetivaram, respectivamente, um ajuste fino quanto à concentração de citocinina, de ácido giberélico e de mio-inositol, de modo a incrementar a regeneração de plantas e o desenvolvimento *in vitro* e reduzir a formação de calos.

Quanto à aclimatização das plantas obtidas a partir da cultura de tecidos, foram testados dois tipos de irrigação e a adição de casca de arroz carbonizada ao substrato comercial Plantmax® no experimento 2.1.

Em função da elevada formação de calos na parte basal das plantas a aclimatizar, no experimento 2.2 foi testado o efeito do corte basal do calo, de forma semelhante à feita quando do plantio convencional, em que se efetua um corte em bisel para aumentar a área de enraizamento.

As plantas aclimatizadas foram então avaliadas quanto ao desenvolvimento inicial em vasos, em casa de vegetação, no experimento 3.1. Este material não foi levado para campo aberto, primeiramente pelo limitado número de plantas; em segundo, porque a primeira e a segunda gerações apresentam porte reduzido em relação a plantas convencionais, recuperando o porte normal à medida que avançam as gerações.

No experimento 3.2, foi comparado o material oriundo de cultura de tecidos ao material convencionalmente utilizado pelos produtores, propágulos da cultivar Amarela de Senador Amaral obtido junto a lavouras comerciais.

Foram testadas plantas indicadoras de modo a identificar as melhores espécies a serem utilizadas em um programa de indexação no ensaio 4.1. No experimento 4.2, foi efetuada a indexação das matrizes e do material obtido a partir de cultura de tecidos nos experimentos 1.1 a 1.6, havendo plantas que foram multiplicadas por um ciclo e por dois ciclos em vasos em casa de vegetação. No item 4.3 são apresentados indicativos para a caracterização, ao nível de gênero, de vírus que infecta mandioquinha-salsa no Brasil.

### **3.1 Cultura de Tecidos**

De maneira geral, para os experimentos relativos ao cultivo *in vitro*, a desinfestação do material oriundo do campo foi feita inicialmente na sala de preparo, concluindo-se o trabalho na sala de transferência sob capela de fluxo laminar, seguindo os passos abaixo descritos:

Na sala de preparo:

- Cortes laminares superficiais, deixando-se 2 a 3 cm de reserva e 1 a 2 cm de pecíolo;
- imersão em álcool 70% por 3 minutos;
- imersão em água destilada para retirada do excesso de álcool;
- cortes laminares superficiais, deixando-se 1 a 1,5 cm de reserva e 0,5 a 1 cm de pecíolo;
- imersão em álcool 70% por 1 minuto;
- imersão em água destilada para retirada do excesso de álcool;
- imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1,25% por 10 minutos;

Na sala de transferência, em capela de fluxo laminar:

- imersão em água autoclavada por 3 vezes para a retirada do excesso de cloro;
- cortes laminares superficiais, obtendo-se o explante para inoculação nos tubos de ensaio.

Os explantes foram extraídos de plantas matrizes vigorosas, sem sintomas visuais de doenças, com idade em torno de seis meses. As matrizes foram identificadas individualmente e, de cada uma, retiraram-se cerca de 15 filhotes.

Os explantes foram cultivados individualmente em tubos de ensaio, utilizando-se cerca de 15 mL de meio autoclavado, e mantidos em salas de crescimento a  $25 \pm 2^\circ \text{C}$  com 14 horas de fotoperíodo e iluminação fluorescente com intensidade luminosa em torno de  $40 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Para todos os tratamentos, adicionaram-se sacarose a 3% e ágar a 0,7%.

A taxa de regeneração, o tamanho do calo, o número e altura de folhas, o número e comprimento de raízes, quando presentes, foram avaliados após quatro semanas.

A taxa de regeneração foi dada pela razão entre o número de plantas viáveis obtidas e o número de explantes utilizados, considerando-se plantas viáveis aquelas que apresentaram crescimento foliar mínimo de 1 cm, tomando-se este valor como um mínimo para a aclimatização.

O tamanho do calo foi avaliado pela maior medida transversal do calo formado na parte basal de cada planta.

O número de folhas por planta é obtido pela contagem simples das folhas formadas por cada planta, desde que já com os folíolos visíveis. A altura máxima das folhas representa a altura da maior folha de cada planta, medida da inserção no caule até seu ápice. A altura média das folhas refere-se ao seu tamanho médio, obtido pela razão entre o somatório da altura de cada folha de uma planta e o número de folhas da mesma.

O número de raízes é dado pela contagem de raízes por planta. O comprimento médio de raízes é obtido pela razão entre o somatório do comprimento de cada raiz de uma planta e o número de raízes da mesma. O comprimento máximo de raízes representa a medida da raiz mais comprida de cada planta.

As medidas referentes aos calos, folhas e raízes foram efetuadas externamente ao tubo de ensaio com o crescimento foliar (ICF), obtido a partir da multiplicação do número de folhas pela tamanho médio destas, de modo a reduzir distorções nos valores com relação a tamanho médio de folhas, como no caso em que plantas bem desenvolvidas com muitas folhas confundem-se com plantas estioladas com poucos ou mesmo um único broto.

### 3.1.1 Avaliação dos meios B5 e MS.

O experimento foi realizado no laboratório de cultura de tecidos do Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) em novembro e dezembro de 2000.

Como explantes, utilizaram-se gemas apicais com cerca de 2 mm, da cultivar Amarela de Senador Amaral.

Testaram-se os meios B5 (Gamborg et al., 1968) e MS (Murashige & Skoog, 1962), puros e adicionados de  $0,01\text{mg.L}^{-1}$  de ácido naftaleno acético (ANA) e de  $0,1\text{mg.L}^{-1}$  de ANA +  $0,2\text{mg.L}^{-1}$  de 6-benzilaminopurina (BAP), tendo por base os resultados obtidos por Luz (1993), Senna Neto (1990) e Pessoa et al. (1994), recomendando o meio B5, e por Castillo (1991) e Duque (1993), citando que o meio MS é adequado ao desenvolvimento in vitro de mandioquinha-salsa.

Trata-se, portanto, de um experimento em fatorial  $2 \times 3$  (meios de cultura x reguladores de crescimento), montado no delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições. Cada parcela foi constituída por oito tubos de ensaio. Efetuaram-se análises de variância e testes de média Tukey.

### 3.1.2 Avaliação do tipo de auxina e da concentração do meio MS.

O experimento foi realizado no laboratório de cultura de tecidos da Universidade Federal de Lavras (UFLA) em janeiro e fevereiro de 2001.

Utilizaram-se como explantes gemas apicais com aproximadamente 2 mm, da cultivar Amarela de Senador Amaral. No caso específico deste experimento, utilizaram-se plantas matrizes com 12 meses, isto é, plantas maduras que já haviam passado da fase juvenil. Para promover estiolamento da região meristemática, de modo a facilitar a retirada dos ápices caulinares, as plantas matrizes ficaram em caixas de areia em casa de vegetação por 20 dias, sob elevado adensamento e luminosidade reduzida.

Foi testado o meio MS em sua composição normal e a 50%, ou seja, o meio MS com metade de sua concentração de sais. Avaliaram-se, ainda, dois tipos de auxina, ANA e ácido indol butírico (AIB), adicionados a  $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$  de BAP, concentração que proporcionou bom desenvolvimento de plantas no experimento anterior. O controle constituiu-se dos meios de cultura MS a 50 e a 100% sem nenhum regulador de crescimento.

Trata-se, portanto, de um experimento em fatorial  $2 \times 3$  (concentrações de sais do meio MS x tipo de auxina), montado no delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições. Cada parcela foi constituída por oito tubos de ensaio. Efetuaram-se análises de variância e testes de média Tukey.

### 3.1.3 Avaliação do tamanho de explante.

O experimento foi realizado no laboratório de cultura de tecidos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), em março e abril de 2001.

Utilizou-se o Meio B5 (Gamborg et al., 1968), adicionado de  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$  de ANA +  $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$  de BAP, tendo por base os resultados obtidos nos experimentos anteriores.

Foram utilizadas as cultivares Amarela de Senador Amaral (ASA) e Amarela Comum (AC).

Os tratamentos foram constituídos de diferentes tamanhos de explantes, testando-se ápices caulinares meristemáticos com aproximadamente 0,4 mm e gemas apicais com cerca de 2 mm e 5 mm. Os ápices caulinares foram extraídos sob lupa com aumento de 20 vezes.

Trata-se, portanto, de um experimento em fatorial  $2 \times 3$  (cultivares x tamanho de explante), montado no delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições. Cada parcela foi constituída por seis tubos de ensaio. Efetuaram-se análises de variância e testes de média Tukey.

### 3.1.4 Avaliação da concentração de BAP.

O experimento foi realizado no laboratório de cultura de tecidos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), em março e abril de 2001.

Utilizaram-se as cultivares Amarela de Senador Amaral e Amarela Comum e explantes com cerca de 2 mm.

Testaram-se as concentrações de 0; 0,2 e 0,4 mg.L<sup>-1</sup> de BAP adicionadas ao meio B5, acrescido de 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA, tendo por base os resultados obtidos nos experimentos anteriores.

Trata-se, portanto, de um experimento em fatorial 2 x 3 (cultivares x concentração de BAP), montado no delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições. Cada parcela foi constituída por seis tubos de ensaio. Efetuaram-se análises de variância e testes de média Tukey para a fonte de variação cultivar e análise de regressão para níveis de BAP.



### **3.1.5 Avaliação da concentração de Ácido Giberélico.**

O experimento foi realizado no laboratório de cultura de tecidos da Embrapa Hortaliças, em setembro e outubro de 2002.

Foram utilizadas as cultivares Amarela de Senador Amaral Amarela Comum e explantes com aproximadamente 2 mm.

Testaram-se as concentrações de 0; 0,125 e 0,250 mg.L<sup>-1</sup> de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) adicionado ao meio B5, acrescido de 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA + 0,2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, tendo por base os resultados obtidos nos experimentos anteriores.

Trata-se, portanto, de um experimento em fatorial 2 x 3 (cultivares x concentração de GA<sub>3</sub>), montado no delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições. Cada parcela foi constituída por seis tubos de ensaio. Efetuaram-se análises de variância e testes de média Tukey para a fonte de variação cultivar e análise de regressão para níveis de GA<sub>3</sub>.

### **3.1.6 Avaliação da concentração de Mio-inositol.**

O experimento foi realizado no laboratório de cultura de tecidos da Embrapa Hortaliças, em setembro e outubro de 2002.

Foram utilizadas as cultivares Amarela de Senador Amaral, Amarela Comum e explantes com aproximadamente 2 mm.

Testaram-se as concentrações de 0; 50 e 100 mg.L<sup>-1</sup> de mio-inositol adicionados ao meio B5, acrescido de 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA + 0,2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, tendo por base os resultados obtidos nos experimentos anteriores.

Trata-se, portanto, de um experimento em fatorial 2 x 3 (cultivares x concentração de mio-inositol), montado no delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições. Cada parcela foi constituída por seis tubos de ensaio. Efetuaram-se análises de variância e testes de média Tukey para a fonte de variação cultivar e análise de regressão para níveis de mio-inositol.

## **3.2 Aclimatização**

As plantas obtidas a partir da cultura de tecidos foram transplantadas em bandejas de poliestireno expandido (isopor), com 128 células. No momento da retirada das plantas dos tubos de ensaio, elas foram lavadas para retirada de meio de cultura aderido às raízes e aos calos.

Utilizou-se o substrato comercial Plantmax<sup>®</sup>, amplamente utilizado para trabalhos deste tipo.

Foram utilizadas plantas oriundas da cultura de tecidos das cultivares Amarela de Senador Amaral e Amarela Comum.

### **3.2.1 Avaliação do sistema de irrigação e da adição de casca de arroz carbonizada.**

O experimento foi realizado em casa de vegetação na Empresa Hortaliças, em janeiro e fevereiro de 2003.

Foi avaliada a adição de casca de arroz carbonizada (CAC) ao substrato na proporção de 1 de CAC: 3 de Plantmax<sup>®</sup>.

Testou-se também o sistema de irrigação por flutuação em comparação com o de microaspersão, tradicionalmente utilizada na produção de mudas e aclimatização de plantas (Minami, 1995; Filgueira, 2000). A irrigação por flutuação foi obtida pela manutenção permanente de lâmina d'água de 2 a 3cm sob as bandejas de mudas, utilizando-se bandejas plásticas.

As bandejas foram mantidas em casa de vegetação, onde as temperaturas oscilaram entre 19 e 24°C à noite e 25 e 42°C durante o dia.

O experimento foi montado no delineamento em blocos casualizados com 4 repetições, disposto em parcelas subdivididas; as parcelas foram

constituídas pelo sistema de irrigação e a adição ou não de CAC e as cultivares representaram as subparcelas. A parcela foi constituída por 8 plantas. Efetuaram-se análises de variância e testes de média Tukey.

Quatro semanas após o transplântio das plantas avaliaram-se a sobrevivência, o número e a altura de folhas.

### **3.2.2 Avaliação do corte basal nas plantas.**

O experimento foi realizado em casa de vegetação na Empresa Hortaliças, em fevereiro e março de 2003.

Testou-se o efeito do corte da parte basal das plantas no momento do transplântio para a aclimatização, em função da excessiva formação de calo e fraco enraizamento observado em todos os tratamentos que apresentaram boa formação da parte aérea da planta.

Foram avaliadas, ainda, as cultivares Amarela de Senador Amaral e Amarela Comum.

As plantas obtidas a partir da cultura de tecidos foram transplantadas em bandejas de poliestireno expandido (isopor) com 128 células. No transplântio, isto é, no momento da retirada das plantas dos tubos de ensaio, as plantas foram levadas para retirada de meio de cultura aderido às raízes e aos calos.

Utilizou-se o substrato comercial Plantmax<sup>®</sup>, adicionado de casca de arroz na proporção de 3:1, em função do resultado obtido no experimento anterior.

As bandejas foram mantidas em casa de vegetação, onde as temperaturas oscilaram entre 19 e 24°C à noite e 25 e 42°C durante o dia. A irrigação utilizada foi a por microaspersão.

O delineamento foi em blocos casualizados com 5 repetições, em faixas (com e sem corte basal). Efetuaram-se análises de variâncias e testes de média Tukey.

Quatro semanas após o transplântio das plantas, avaliaram-se a sobrevivência, o número e a altura de folhas.

### **3.3 Desenvolvimento In Vivo**

#### **3.3.1 Avaliação do Desenvolvimento Inicial**

As plantas obtidas a partir de cultura de tecidos foram testadas quanto ao vigor, avaliando-se o desenvolvimento inicial das mudas de mandioquinha-salsa. Como controle, tomaram-se mudas de plantas matrizes que foram fornecedoras de explantes para a cultura de tecidos.

As mudas foram plantadas em vasos de 2 L, em casa de vegetação, em março de 2003. Utilizou-se substrato composto por 3 partes de terra de barranco, 1 parte de esterco bovino curtido, 1 parte de casca de arroz carbonizada, corrigido e enriquecido por 1,2 kg de calcário dolomítico e 400 g de NPK 04-14-08 por m<sup>3</sup> de substrato.

Testaram-se plantas matrizes e plantas de 1ª e de 2ª geração após a cultura de tecidos.

Foi utilizado o delineamento em blocos casualizados, com cinco repetições. As parcelas foram compostas por 10 vasos para plantas de 1ª e de 2ª geração após a cultura de tecidos e por quatro vasos para plantas matrizes.

Foram avaliadas as características taxa de sobrevivência, número e altura de folhas. A produtividade comercial não foi avaliada porque, à

semelhança do que ocorre com alho que passa pela cultura de tecidos, a primeira e a segunda gerações apresentam-se menores e produzem poucos filhotes, geralmente três a cinco.

### **3.3.2 Avaliação da Produção em Campo**

Plantas de mandioquinha-salsa da cv. Amarela de Senador Amaral produzidas a partir da cultura de gemas apicais pela empresa In Vitro, localizada no Gama, Distrito Federal, foram multiplicadas por um ciclo em campo aberto, distante 100 m de outras plantas de mandioquinha-salsa. No segundo ano, este material, codificado por ASA-CT, foi comparado ao material convencionalmente utilizado pelos produtores, propágulos das cultivares Amarela de Senador Amaral (ASA) obtidos junto a lavouras comerciais.

Efetuuou-se o preparo de mudas e o plantio em canteiros para pré-enraizamento em junho de 2003 segundo Madeira (2000b). Seguiram-se as recomendações técnicas citadas por Santos & Carmo (1998) e Santos et al. (2000). A colheita foi realizada oito meses após o transplântio em fevereiro de 2004.

O plantio foi efetuado em faixas e cada faixa se constituiu de um material, ASA e ASA-CT. Efetuaram-se avaliações com relação ao desempenho produtivo, tomando-se seis parcelas em cada faixa. A parcela foi constituída por 5 plantas.

Avaliou-se, em número e peso, a produção por classe comercial, utilizando-se a classificação proposta pelas Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo - Ceagesp (2002). Os dados foram submetidos a testes de média.

Foram observadas as características morfológicas do material obtido a partir da cultura de tecidos, comparando-se com o material tradicionalmente cultivado, de modo a observar se houve variação somaclonal em função do cultivo *in vitro*. Para tanto, utilizou-se a descrição efetuada por Santos (2003), em que são apresentados os descritores morfológicos para a cv. Amarela de Senador Amaral. As características observadas foram as seguintes: porte da planta, cor das folhas, cor do pecíolo, cor da base do pecíolo, cor externa das raízes, formato das raízes, inserção das raízes na coroa, coloração do xilema, fechamento do ápice radicular e quantidade de reentrâncias nas raízes.

### 3.4 Vírus em mandioquinha-salsa no Brasil

#### 3.4.1 Inoculação mecânica em círculo de hospedeiros

Efetuarão-se testes de inoculação mecânica em doze plantas indicadoras para determinação das melhores espécies a serem utilizadas quando da realização de um número maior de amostras a testar. A escolha das plantas a serem testadas foi baseada nas informações relativas a plantas hospedeiras, não hospedeiras e indicadoras relacionadas aos vírus que infectam mandioquinha-salsa (Regenmortel et al., 2000). As plantas indicadoras estudadas foram *Gomphrena globosa*, *Physalis floridana*, *Nicandra physaloides*, *Datura stramonium*, *D. metel*, *Nicotiana benthamiana*, *N. tabacum*, *N. sansum*, *Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor*, *Capsicum annum* cv. PI 679, *Capsicum annum* cv. Ikeda, *Cucurbita pepo* e *Cucumis sativum*.

Testaram-se amostras de uma planta matriz da cultivar Amarela de Senador Amaral, que foi codificada por S1, fornecedora de explantes para a cultura de tecidos, e de plantas obtidas a partir da cultura de gemas apicais com cerca de 5 mm da planta matriz S1, codificadas por S1-1, S1-2, S1-3, S1-4. As amostras constituíram-se de pedaços de folhas com aproximadamente 1 cm<sup>2</sup>.

Utilizou-se a metodologia descrita por Dijkstra & Jager (1998), que consiste, resumidamente, na maceração de amostras foliares com cerca de 1 cm<sup>2</sup> em solução tampão de inoculação e fricção leve em plantas indicadoras previamente polvilhadas com abrasivo. Como controle negativo, tomaram-se amostras de folhas de plantas indicadoras sadias.



### 3.4.2 Indexação pela inoculação mecânica em plantas indicadoras

Utilizaram-se as plantas indicadoras *Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor* e *Nicotiana benthamiana* para indexação de vírus em mandioquinha-salsa, tendo por base os resultados obtidos no ensaio anterior, em que estas três plantas apresentaram sistematicamente sintomas característicos, indicando a ocorrência de vírus.

Foram testadas amostras de plantas matrizes das cultivares Amarela de Senador Amaral e Amarela Comum, fornecedoras de explantes para a cultura de tecidos, e de plantas obtidas a partir da cultura de ápices caulinares e de gemas apicais, de primeira e de segunda geração de cultivo em telados. As amostras constituíram-se de pedaços de folhas com aproximadamente 1 cm<sup>2</sup>.

Utilizou-se a metodologia descrita por Dijkstra & Jager (1998).

Como controle negativo, tomaram-se amostras de folhas de plantas indicadoras sadias e plantas obtidas por via seminífera, o que teoricamente excluiria a ocorrência da maioria dos fitovírus.

As plantas que apresentaram reação negativa foram retestadas outras duas vezes para confirmação do resultado, exceto quando ocorreu a morte de plantas, inviabilizando a possibilidade de repetir o teste.

### **3.4.3 Indicativos para a caracterização de vírus em mandioquinha-salsa no Brasil**

Trabalhos efetuados pela equipe técnica da Embrapa Hortaliças no sentido de caracterizar o vírus que está infectando mandioquinha-salsa no Brasil são brevemente relatados neste item.

Efetuaram-se testes sorológicos Elisa indireto para AP-1.

Foi feito o sequenciamento parcial da capa protéica de um vírus que infecta mandioquinha-salsa.

Amostras de plantas sintomáticas para vírus foram preparadas para microscopia eletrônica.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Cultura de Tecidos

A taxa de contaminação, principalmente por bactérias endógenas, especialmente *Erwinia* spp., verificada nos experimentos com cultura de tecidos foi de 8,4%, valor relativamente baixo, demonstrando que a metodologia de desinfestação utilizada foi eficiente. Castillo (1991) cita que um dos principais problemas para o cultivo in vitro de mandioquinha-salsa é a contaminação por bactérias endógenas. Neste trabalho, isso não se verificou e a contaminação do material não constituiu fator limitante ao desenvolvimento in vitro de mandioquinha-salsa. É fundamental que as plantas matrizes fornecedoras de explantes apresentem-se vigorosas, saudáveis e, preferencialmente, juvenis. Há duas hipóteses para esta excessiva contaminação: ou as plantas utilizadas não se apresentavam em bom estado fisiológico e sanitário ou o tamanho dos explantes utilizado foi relativamente grande, o que, segundo Caldas et al. (1998), aumenta as taxas de contaminação.

Os altos valores de CV verificados para as variáveis número de raízes, comprimento máximo das raízes e comprimento médio das raízes devem-se, na verdade, ao fato de que o enraizamento foi extremamente reduzido. Em função disso, quando houve formação de algumas raízes esporadicamente em uma ou outra planta, verificou-se um valor altíssimo para a variabilidade, gerando um CV muito alto. Apesar disso, os dados apresentaram distribuição normal, permitindo sua análise sem necessidade de transformação dos mesmos.

#### 4.1.1 Avaliação dos meios B5 e MS.

Os valores médios para as características taxa de regeneração, tamanho de calos, número de folhas, altura média e máxima das folhas, número de raízes e comprimento médio e máximo das raízes são apresentados na Tabela 1.

As análises de variância do experimento 1.1 estão nas Tabelas 1A a 17A (Anexo A), em que se verifica que a interação meios de cultura x reguladores de crescimento foi altamente significativa para tamanho de calo ( $p=0,0009$ ), altura média e máxima das folhas ( $p=0,0009$  e  $p=0,0000$ , respectivamente) e índice de crescimento foliar ( $p=0,0008$ ).

TABELA 1: Taxa de regeneração, tamanho de calos, desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular em função do meio de cultura e do regulador de crescimento. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.

Meio Cult.	Reg. Cresc.	Taxa Regen. (%)	Tam. Calos (mm)	Parte aérea			Sistema radicular		
				Núm. Folhas	A.Máx. (mm)	A.Méd. (mm)	Núm. Raízes	C.Máx. (mm)	C.Méd. (mm)
MS	0	55,0	0	1,6	30,7	27,3	0,4	1,6	1,5
MS	ANA <sup>1</sup>	70,0	0	1,4	26,6	24,8	1,4	3,5	3,1
MS	ANA+BAP <sup>2</sup>	95,0	7,5	5,1	22,9	15,4	0	0	0
B5	0	70,0	0	1,5	28,3	22,9	0,6	8,9	7,5
B5	ANA <sup>1</sup>	85,0	1,6	1,2	21,3	19,9	1,0	12,7	7,1
B5	ANA+BAP <sup>2</sup>	100,0	13,9	4,3	64,7	31,9	0,1	0,6	0,6
CV(%)	-	12,70	35,89	19,89	22,40	21,52	115,22	182,73	131,57

A.Máx. = Altura máxima das folhas; A.Méd. = Altura média das folhas; C.Máx. = Comprimento máximo das raízes; C.Méd. = Comprimento médio das raízes.

1 - ANA na concentração de 0,01mg.L<sup>-1</sup>

2 - ANA+BAP nas concentrações de 0,1mg.L<sup>-1</sup> e de 0,2 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Desdobrando-se a interação meios de cultura x reguladores de crescimento, observa-se a superioridade do meio B5 quando se utilizam os reguladores de crescimento ANA e BAP associados para as características altura média e máxima das folhas, ICF e tamanho de calos (Tabela 2). O calejamento excessivo ocorreu em consequência do maior desenvolvimento da planta como um todo e não por um efeito negativo de calejamento excessivo.

Com relação à taxa de regeneração, ao número de folhas e ao número e comprimento de raízes, não foram verificadas interações significativas entre os fatores de variação. Para estas características, não se verificaram diferenças significativas entre os meios B5 e MS, com 79,2% de plantas regeneradas, contendo em média 2,5 folhas e 0,6 raízes por planta.

Entre os reguladores de crescimento, os tratamentos com ANA e BAP associados foram superiores com relação à taxa de regeneração, seguidos dos tratamentos somente com ANA. Para número de folhas, ANA e BAP associados superaram os demais tratamentos (Tabela 3). Isso provavelmente ocorre em função do reconhecido efeito destes reguladores de crescimento na multiplicação e alongamento celulares (Caldas et al., 1998).

De forma geral, os tratamentos que receberam a adição somente da auxina ANA, na concentração de  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ , produziram maior número de raízes quando comparados aos demais tratamentos, confirmando o reconhecido efeito enraizador das auxinas (Tabela 3).

TABELA 2: Tamanho de calos de plantas in vitro de mandioquinha-salsa em função do meio de cultura e de reguladores de crescimento. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.

Tamanho de calos				
Meio de Cultura	Casca de arroz carbonizada (CAC)			p
	0 (sem)	ANA <sup>1</sup>	ANA + BAP <sup>1,2</sup>	
MS	0 aB	0 aB	7,5 bA	0,0000
B5	0 aB	1,6 aB	13,9 aA	0,0000
P	1,0000	0,1208	0,0000	
Altura Média de Folhas				
MS	27,3 aA	24,8 aA	15,4 b B	0,0110
B5	22,9 a B	19,9 a B	31,9 aA	0,0116
P	0,2412	0,1921	0,0004	
Altura Máxima de Folhas				
MS	30,7 aA	26,6 aA	22,9 b A	0,3347
B5	28,3 a B	21,3 a B	64,7 aA	0,0000
P	0,6436	0,3184	0,0000	
Índice de Crescimento Foliar				
MS	44 a B	33 a B	78 bA	0,0048
B5	34 a B	22 a B	139 aA	0,0000
P	0,4424	0,3856	0,0001	

1 - ANA na concentração de 0,01mg.L<sup>-1</sup>

2 - ANA+BAP nas concentrações de 0,1mg.L<sup>-1</sup> e de 0,2 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente.

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

Os resultados obtidos confirmam as observações feitas por Senna Neto (1990) e Luz (1993) de que a combinação 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e 0,2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP gerou mais plantas e estas foram mais vigorosas.

TABELA 3: Taxa de regeneração, número de folhas e número de raízes em função do regulador de crescimento. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.

Reg. Cresc	Taxa Regen. (%)	Núm. Folhas	Núm. Raízes
0	62,5 c	1,6 b	0,5 ab
ANA <sup>1</sup>	77,5 b	1,3 b	1,2 a
ANA+BAP <sup>2</sup>	97,5 a	4,7 a	0,1 b
p	0,0000	0,0000	0,0096
Ep	3,555	0,177	0,234

1 - ANA na concentração de 0,01mg.L<sup>-1</sup>

2 - ANA+BAP nas concentrações de 0,1mg.L<sup>-1</sup> e de 0,2 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente.

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

Portanto, o tratamento B5 + 0,1mg.L<sup>-1</sup> de ANA + 0,2mg.L<sup>-1</sup> de BAP destacou-se entre os meios testados como o melhor meio de cultivo para mandioquinha-salsa. Entretanto, são necessários ajustes para reduzir a formação de calos e melhorar o enraizamento.

A superioridade do meio B5 para o desenvolvimento in vitro de mandioquinha-salsa pode estar associada à sua menor concentração de sais. A mandioquinha-salsa é cultura rústica e seu desenvolvimento em campo ocorre plenamente em solos de fertilidade mediana (Balbino et al., 1990; Souza, 1992). Portanto, à semelhança do que ocorre em campo, é possível que se obtenha bom desenvolvimento in vitro utilizando um meio básico de cultura com menor concentração de sais. A Figura 2 apresenta plantas de mandioquinha-salsa produzidas nos meios básicos B5 e MS.

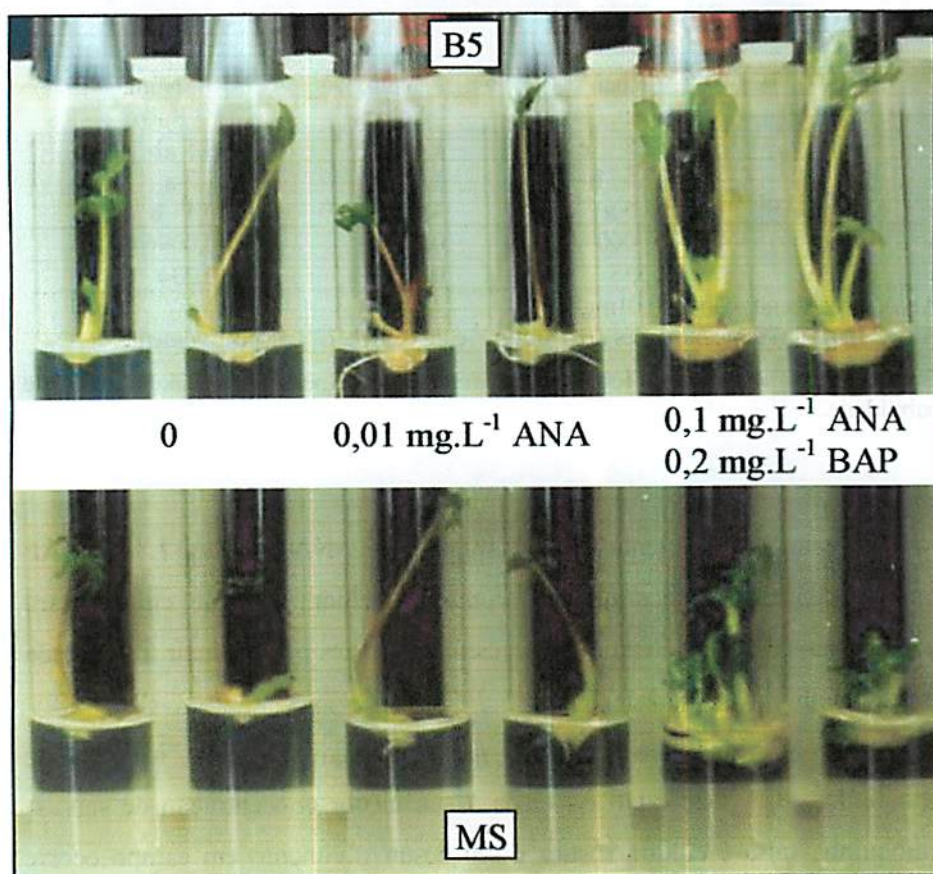


FIGURA 2: Plantas de mandioquinha-salsa produzidas nos meios B5 e MS, sem regulador de crescimento (0), com  $0,01 \text{ mg.L}^{-1}$  de ANA e com  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$  de ANA +  $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$  de BAP. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.



#### 4.1.2 Avaliação do tipo de auxina e da concentração do meio MS.

As análises de variância do experimento 1.2 estão nas Tabelas 18A a 26A (Anexo A), em que se verifica que não houve interação significativa entre os fatores de variação para nenhuma das características avaliadas.

Na Tabela 4 são apresentados os valores médios para as características taxa de regeneração, tamanho de calos, número de folhas, altura média e máxima das folhas, número de raízes e comprimento médio e máximo das raízes em função da concentração do meio MS e tipo de auxina.

Neste segundo experimento, foram avaliadas duas concentrações do meio MS, a composição normal e a equivalente a 50% dos sais, de modo a verificar se este meio de cultura realmente não promove bom desenvolvimento in vitro de mandiocinha-salsa. Também foram testadas as auxinas AIB e ANA.

**TABELA 4:** Taxa de regeneração, tamanho de calos, desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular em função da concentração do meio de cultura e do regulador de crescimento. Lavras/MG, Ufla, 2001.

Conc. MS (%)	Reguls. Cresc.	Taxa Regen. (%)	Tam. Calos (mm)	Parte aérea		Sistema radicular			
				Núm. Folhas	A.Máx. (mm)	A.Méd. (mm)	Núm. Raízes	C.Máx. (mm)	C.Méd. (mm)
50	0	22,0	2,0	1,0	19,2	19,2	1,3	5,7	4,6
100	0	27,7	3,4	1,2	12,5	12,3	0,0	0,0	0,0
50	AIB+BAP	93,3	6,8	3,2	19,2	13,9	0,0	0,0	0,0
100	AIB+BAP	82,3	6,6	3,7	16,8	12,5	0,3	0,8	0,8
50	ANA+BAP	94,0	7,1	3,1	20,0	14,4	0,4	0,9	0,8
100	ANA+BAP	86,7	2,2	1,7	20,0	16,6	0,0	0,0	0,0
CV(%)	-	56,52	53,54	34,88	38,62	39,95	217,76	224,77	218,07

A.Máx. = Altura máxima das folhas; A.Méd. = Altura média das folhas; C.Máx. = Comprimento máximo das raízes; C.Méd. = Comprimento médio das raízes.

TABELA 8: Taxa de regeneração, tamanho de calos, desenvolvimento da parte aérea e número de raízes em função da cultivar. Embrapa Hortaliças, Brasília, DF, 2004.

Cv.	Taxa Regen. (%)	Tam. Calos (mm)	Parte aérea				Índice Cresc.Fol.	Núm. Raízes
			Núm. Folhas	A.Máx. (mm)	A.Méd. (mm)			
AC	99,3 a	17,5 a	5,1 a	69,9 a	38,8 a	198 a	0,1 a	
ASA	100,0 a	16,6 a	4,1 b	61,6 a	41,3 a	1569 b	0,2 a	
p	0,3332	0,0409	0,0003	0,0073	0,2150	0,0005	0,5636	
Ep	0,501	0,274	0,160	1,889	1,356	8,628	0,099	

A.Máx. = Altura máxima das folhas; A.Méd. = Altura média das folhas; C.Máx. = Comprimento máximo das raízes; C.Méd. = Comprimento médio das raízes.

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

Verificou-se maior número de folhas na cultivar Amarela Comum e, conseqüentemente, maior ICF, provavelmente por uma característica varietal de maior porte. Para as demais características, não foram observadas diferenças significativas (Tabela 8). Esta superioridade em número de folhas observada na cv. Amarela Comum não interfere no número de plantas a aclimatizar dentro do sistema de produção in vitro proposto, visto que se objetiva, neste trabalho, a obtenção de uma planta para cada explante trabalhado. Contudo, plantas com maior número de folhas para um mesmo tamanho médio dos mesmos apresentam maior capacidade de estabelecimento durante a aclimatização.

Os ápices caulinares com 0,4 mm apresentaram menor crescimento para as variáveis tamanho de calos e altura média e máxima das folhas em relação aos dois tamanhos de gemas apicais (Tabela 9, Figura 3). Com relação ao ICF, ápices caulinares com 0,4 mm não diferiram estatisticamente de gemas apicais com 2 mm e foram significativamente menores que gemas apicais com 5 mm. Os dois tamanhos de gemas apicais não diferiram estatisticamente. Isso já era

**TABELA 9: Taxa de regeneração, tamanho de calos, desenvolvimento da parte aérea e número de raízes em função do tamanho de explante. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.**

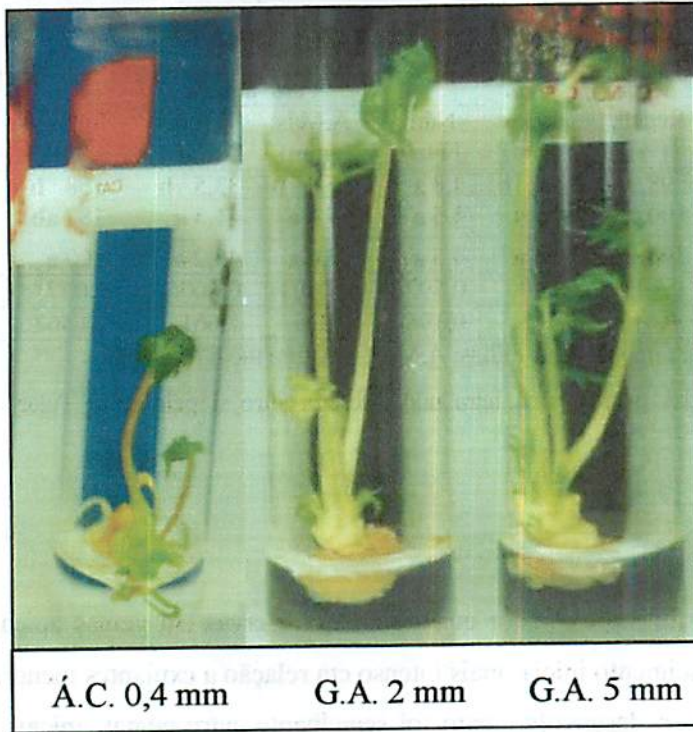
Tamanho Explante	Taxa Regen. (%)	Tam. Calos (mm)	Parte aérea				Núm. Raízes
			Núm. Folhas	A.Máx. (mm)	A.Méd. (mm)	Índice Cresc.Fol.	
A.Caul	98,9 a	13,4 b	4,8 a	56,4 b	33,5 b	158 b	0,0 a
Gema 2	100,0 a	18,1 a	4,5 a	67,4 a	41,5 a	187 ab	0,1 a
Gema 5	100,0 a	19,6 a	4,5 a	73,6 a	45,2 a	200 a	0,3 a
p	0,3911	0,0000	0,5923	0,0003	0,0006	0,0371	0,3754
Ep	0,613	0,335	0,196	2,315	1,661	10,567	0,122

A.Máx. = Altura máxima das folhas; A.Méd. = Altura média das folhas.

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

esperado em função da maior quantidade de reservas em gemas apicais, o que promove crescimento inicial mais intenso em relação a explantes menores.

Como o desenvolvimento foi semelhante entre gemas apicais com 2 e com 5 mm, deve-se preferencialmente trabalhar com gemas menores, visto que, quanto menor é o explante, mais provável é a limpeza com relação a patógenos fúngicos e bacterianos. Quanto a vírus e outros patógenos causadores de doenças degenerativas, mesmo explantes com 2 mm não são suficientes para produzir plantas isentas destas doenças. Para tanto, deve-se utilizar explantes menores, ápices caulinares meristemáticos (Caldas et al., 1998). Em um programa de limpeza clonal, a produção de plantas a partir de gemas apicais só é aplicável quando se utilizam plantas matrizes isentas de vírus, multiplicadas em local isolado com tela antiafídica, acesso restrito e criterioso controle fitossanitário.



**FIGURA 3:** Plantas de mandioquinha-salsa produzidas em meio B5 + 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA + 0,2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP a partir de ápices caulinares meristemáticos com cerca de 0,4 mm e de gemas apicais com cerca de 2 e 5 mm. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

#### 4.1.4 Avaliação da concentração de BAP

As análises de variância do experimento 1.4 estão nas Tabelas 36A a 44A (Anexo A), em que se verifica que não houve interação significativa entre os fatores de variação para nenhuma das características avaliadas.

Este experimento teve por objetivo obter um ajuste fino com relação à concentração ideal de BAP, principalmente no sentido de avaliar a possibilidade de redução do tamanho excessivo de calos.

Os valores médios para as características taxa de regeneração, tamanho de calos, número de folhas, altura média e máxima das folhas, número de raízes e comprimento médio e máximo das raízes em função da cultivar e da concentração de BAP são apresentados na Tabela 10.

TABELA 10: Taxa de regeneração, tamanho de calos, desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular em função da cultivar e da concentração de BAP. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

Cv.	Conc. BAP (mg.L <sup>-1</sup> )	Taxa Regen. (%)	Tam. Calos (mm)	Parte aérea			Sistema radicular		
				Núm. Folhas	A.Máx. (mm)	A.Méd. (mm)	Núm. Raízes	C.Máx. (mm)	C.Méd. (mm)
AC	0	90,0	22,2	1,6	94,4	82,3	0,2	2,3	2,2
ASA	0	97,0	20,6	1,5	94,7	84,9	0,2	2,0	2,0
AC	0,2	100,0	20,0	4,5	81,6	48,4	0,3	1,7	1,0
ASA	0,2	100,0	18,5	3,8	74,5	47,3	0,5	5,8	4,1
AC	0,4	100,0	17,4	6,2	60,4	35,5	0,1	1,4	0,9
ASA	0,4	100,0	17,5	4,3	50,4	32,4	0,2	1,5	1,3
CV(%)	-	8,87	6,31	15,69	11,14	15,25	129,54	137,66	132,14

A.Máx. = Altura máxima das folhas; A.Méd. = Altura média das folhas; C.Máx. = Comprimento máximo das raízes; C.Méd. = Comprimento médio das raízes.

Assim como no experimento anterior, observou-se maior número de folhas e maior ICF na cultivar Amarela Comum (Tabela 11).

Níveis crescentes de BAP proporcionaram plantas com mais folhas (Tabela 12, Figura 4), porém de menor tamanho (Tabela 12, Figura 5). A ausência de BAP levou à formação de plantas estioladas, com poucas folhas, o que pode ser observado pelos elevados valores de altura máxima de folhas, associados a um baixo número de folhas (Tabela 12).

TABELA 11: Taxa de regeneração, tamanho de calos, desenvolvimento da parte aérea e número de raízes em função da cultivar. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

Cv.	Taxa	Tamanho	Parte aérea				
	Regen. (%)	Calos (mm)	Núm. Folhas	A.Máx. (mm)	A.Méd. (mm)	Índice Cresc.Fol.	Núm. Raízes
AC	96,7 a	19,9 a	4,1 a	78,8 a	55,4 a	190 a	0,2 a
ASA	99,0 a	18,9 a	3,2 b	73,2 a	54,8 a	145 b	0,3 a
p	0,5202	0,0655	0,0010	0,1258	0,8785	0,0029	0,5242
Ep	2,593	0,405	0,247	2,593	3,430	9,006	0,088

A.Máx. = Altura máxima das folhas; A.Méd. = Altura média das folhas.

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

TABELA 12: Taxa de regeneração, tamanho de calos, desenvolvimento da parte aérea e número de raízes em função da concentração de BAP. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

Conc. BAP (mg.L <sup>-1</sup> )	Taxa Regen. (%)	Tam. Calus (mm)	Parte aérea				Núm. Raízes
			Núm. Folhas	A.Máx. (mm)	A.Méd. (mm)	Índice Des.Fol.	
0	93,5	21,4	1,5	94,5	83,6	136	0,2
0,2	100,0	19,3	4,1	78,0	47,9	195	0,4
0,4	100,0	17,4	5,2	55,4	33,9	176	0,1
Ep	3,192	0,499	0,304	4,223	3,193	11,088	0,108

A.Máx. = Altura máxima das folhas; A.Méd. = Altura média das folhas.

O aumento na concentração de BAP reduziu a formação de calos (Tabela 12, Figura 4), entretanto promoveu, proporcionalmente, maior redução no desenvolvimento da parte aérea (Tabela 12, Figura 5), o que se pode verificar pelo ICF. Portanto, não se pode aumentar muito o nível de BAP e a relação BAP/ANA, de modo a não comprometer o pleno desenvolvimento das plantas. Deve-se buscar o balanço ideal para concentração de BAP, isto é, um ponto intermediário que proporcione bom desenvolvimento da parte aérea em tamanho e número. Também se deve considerar que um menor tamanho de calo é interessante. Pelos resultados obtidos, concentrações em torno de 0,3 mg.L<sup>-1</sup> de BAP foram as que conciliaram as melhores características, tamanho de calo relativamente reduzido, em torno de 18,4 mm, e bom desenvolvimento da parte aérea, com cerca de 4,5 folhas com altura média de 43 mm. A Figura 6 mostra plantas de mandioquinha-salsa produzidas sob diferentes concentrações de BAP.

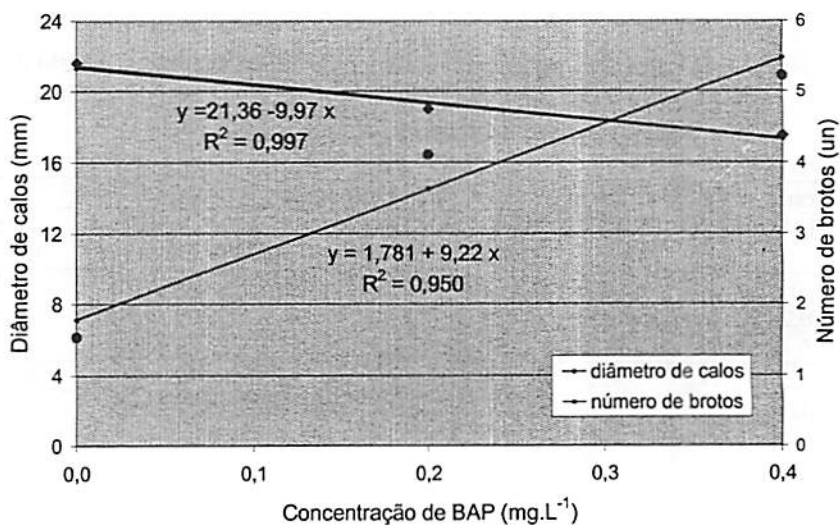


FIGURA 4: Número de folhas e tamanho de calos em função da concentração de BAP. Brasília/DF Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

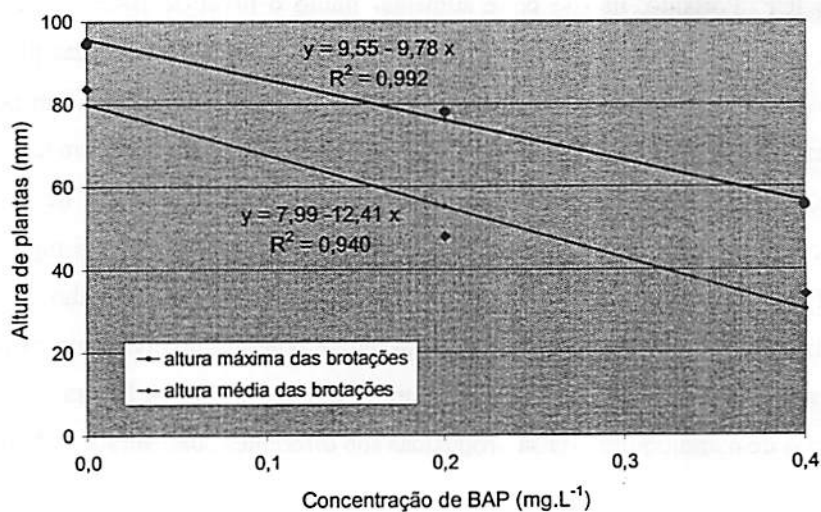


FIGURA 5: Altura média e máxima das folhas em função da concentração de BAP. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot. 2001.



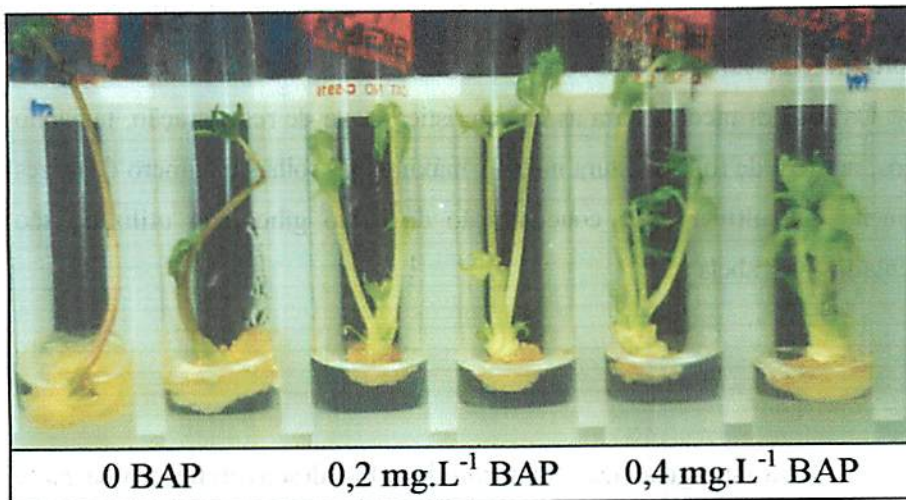


FIGURA 6: Plantas de mandioquinha-salsa produzidas em meio B5 + 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e sob diferentes concentrações de BAP (0; 0,2 e 0,4 mg.L<sup>-1</sup> de BAP). Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

#### 4.1.5 Avaliação da concentração de Ácido Giberélico.

As análises de variância do experimento 1.5 estão nas Tabelas 45A a 50A (Anexo A), em que se verifica que não houve interação significativa entre os fatores de variação para nenhuma das características avaliadas.

Os valores médios para as características taxa de regeneração, tamanho de calos, número de folhas, altura média e máxima das folhas e número de raízes em função da cultivar e da concentração de ácido giberélico utilizada são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13: Taxa de regeneração, tamanho de calos, desenvolvimento da parte aérea e número de raízes em função da cultivar e da concentração de GA<sub>3</sub>. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

Cv.	Conc. GA <sub>3</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	Taxa Regen. (%)	Tam. Calus (mm)	Parte aérea			Núm. Raízes
				Núm. Folhas	A.Máx. (mm)	A.Méd. (mm)	
AC	0	87,5	7,0	3,7	21,8	15,0	0,0
ASA	0	87,5	6,0	2,9	20,0	14,0	0,0
AC	0,125	82,5	7,0	3,2	24,6	16,2	0,0
ASA	0,125	75,0	6,0	2,5	22,9	16,4	0,0
AC	0,250	100,0	8,8	3,5	31,5	19,9	0,0
ASA	0,250	90,0	7,0	2,8	34,8	21,2	0,0
CV(%)	-	14,46	15,81	21,24	16,75	11,63	0,0000

A.Máx. = Altura máxima das folhas; A.Méd. = Altura média das folhas.

Assim como nos dois experimentos anteriores, obteve-se maior número de folhas e maior ICF na cv. Amarela Comum (Tabela 14).

O aumento na concentração de GA<sub>3</sub> promoveu elevação significativa na altura média e máxima das folhas e tendência discreta de aumento no tamanho de calos (Tabela 15, Figura 7). A concentração de GA<sub>3</sub> não teve influência sobre o número de folhas e o tamanho de calos (p=0,0633 e p=0,054, respectivamente). A Figura 8 mostra plantas de mandioquinha-salsa produzidas sob diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>.

Pelos resultados apresentados na Tabela 15, pôde-se constatar o efeito benéfico promovido por este regulador de crescimento. A curva de resposta a GA<sub>3</sub> para altura das plantas é apresentada na Figura 7. Castillo (1991), Cevallos & Castillo (1991) e Duque (1993), em concordância com os resultados obtidos, recomendam a adição de 0,25 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> ao meio de cultivo, ainda que tendo trabalhado com o meio MS como meio básico.

TABELA 14: Taxa de regeneração, tamanho de calos, desenvolvimento da parte aérea e número de raízes em função da cultivar. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

Cv.	Taxa Regen. (%)	Tam. Calos (mm)	Parte aérea				Núm. Raízes
			Núm. Folhas	A.Máx. (mm)	A.Méd. (mm)	Índice Cresc.Fol.	
AC	90,0 a	7,6 a	3,5 a	26,0 a	17,1 a	59 a	0,0 a
ASA	84,2 a	6,3 b	2,7 b	25,9 a	17,2 a	47 b	0,0 a
Pr>Fc	0,2744	0,0130	0,0149	0,9669	0,8561	0,0206	-
Ep	3,666	0,318	0,190	1,255	0,574	3,245	0

A.Máx. = Altura máxima das folhas; A.Méd. = Altura média das folhas.

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



TABELA 15: Taxa de regeneração, tamanho de calos, desenvolvimento da parte aérea e número de raízes em função da concentração de GA<sub>3</sub>. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

Conc. GA <sub>3</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	Taxa Regen. (%)	Tam. Calos (mm)	Parte aérea			Núm. Raízes
			Núm. Folhas	A.Máx. (mm)	A.Méd. (mm)	
0	87,5	6,5	3,3	20,9	14,5	0,0
0,125	78,8	6,5	2,9	23,8	16,4	0,0
0,250	95,0	7,9	3,2	33,2	20,6	0,0
Ep	4,452	0,389	0,234	1,537	0,704	0

A.Máx. = Altura máxima das folhas; A.Méd. = Altura média das folhas.

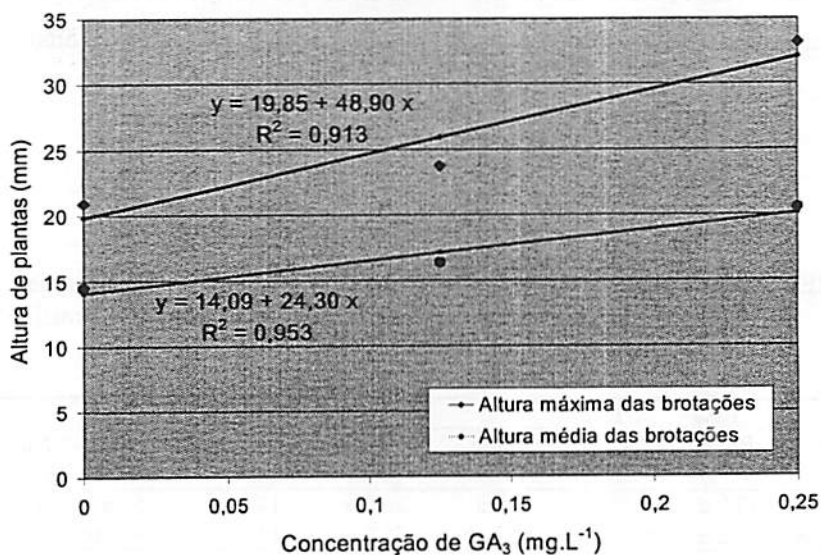


FIGURA 7: Altura média e máxima das folhas em função da concentração de GA<sub>3</sub>. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

Portanto, para as condições do experimento, a concentração de 0,25 mg.L<sup>-1</sup> de ácido giberélico adicionado ao meio de cultura promoveu desenvolvimento de plantas maiores e mais vigorosas.

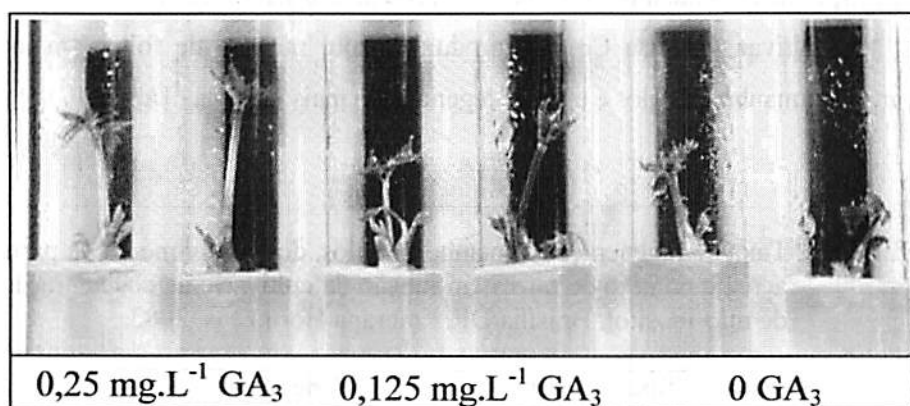


FIGURA 8: Plantas de mandioquinha-salsa produzidas em meio B5 + 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA + 0,2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e sob diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> (0; 0,125 e 0,25 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>). Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

#### 4.1.6 Avaliação da concentração de Mio-inositol

As análises de variância do experimento 1.6 estão nas Tabelas 51A a 56A (Anexo A), em que se verifica que não houve interação significativa entre os fatores de variação para nenhuma das características avaliadas.

Os valores médios para as características taxa de regeneração, tamanho de calos, número de folhas, altura média e máxima das folhas, número de raízes e comprimento médio e máximo das raízes em função da cultivar e da concentração de mio-inositol utilizada são apresentados na Tabela 16.

A cultivar Amarela Comum produziu maior número de folhas, maior ICF, maior tamanho de calos e taxa de regeneração mais elevada (Tabela 17).

**TABELA 16: Taxa de regeneração, tamanho de calos, desenvolvimento da parte aérea e número de raízes em função da cultivar e da concentração de mio-inositol. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.**

Cv.	Conc. Mio-In. (mg.L <sup>-1</sup> )	Taxa Regen. (%)	Tam. Calos (mm)	Parte aérea			Núm. Raízes
				Núm. Folhas	A.Máx. (mm)	A.Méd. (mm)	
AC	0	85,0	6,3	3,2	21,5	15,0	0,0
ASA	0	77,5	5,5	2,9	20,7	14,8	0,0
AC	50	93,8	5,6	3,9	16,3	11,8	0,0
ASA	50	62,8	5,0	2,6	17,9	13,5	0,0
AC	100	87,5	6,5	3,2	18,8	13,7	0,0
ASA	100	87,5	5,6	2,6	20,1	13,9	0,0
CV(%)	-	11,81	11,03	12,42	15,71	12,38	0

A.Máx. = Altura máxima das folhas; A.Méd. = Altura média das folhas.

TABELA 17: Taxa de regeneração, tamanho de calos, desenvolvimento da parte aérea e número de raízes em função da cultivar. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

Cv.	Taxa	Tam. Calos (mm)	Parte aérea				Núm. Raízes
	Regen. (%)		Núm. Folhas	A.Máx. (mm)	A.Méd. (mm)	Índice Des.Fol.	
AC	88,0 a	6,2 a	3,5 a	18,9 a	13,5 a	47 a	0,0 a
ASA	75,9 b	5,4 b	2,7 b	19,6 a	14,1 a	38 b	0,0 a
p	0,0056	0,0099	0,0003	0,5694	0,4099	0,0144	-
Ep	2,806	0,184	0,111	0,871	0,494	1,928	0

A.Máx. = Altura máxima das folhas; A.Méd. = Altura média das folhas; C.Máx. = Comprimento máximo das raízes; C.Méd. = Comprimento médio das raízes.

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

Não foram observadas diferenças significativas entre os níveis de mio-inositol para nenhuma das características avaliadas ( $p > 0,0548$ ). O crescimento de calos não foi reduzido pela diminuição dos níveis de mio-inositol no meio de cultivo. Portanto, a concentração comumente utilizada na composição do meio B5 não foi a causadora da excessiva formação de calos, contrariando a hipótese suscitada com base no seu conhecido efeito estimulador do crescimento de calos (Caldas et al., 1998). Nas concentrações em que se obteve menor número de folhas (0 e 100 mg.L<sup>-1</sup>) verificou-se, em compensação, maior tamanho. Contudo, estas diferenças não foram significativas pelo teste F ( $p > 0,055$ ). Os valores médios obtidos foram de 82,4% para taxa de regeneração, 5,8 mm para tamanho de calos e 3,1 folhas com 13,8 mm de altura média. A Figura 9 mostra plantas de mandioquinha-salsa produzidas sob diferentes concentrações de mio-inositol.

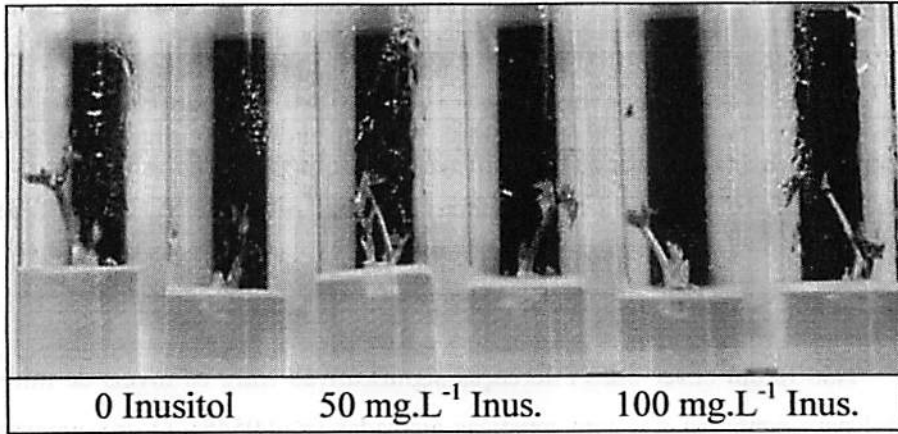


FIGURA 9: Plantas de mandioquinha-salsa produzidas em meio B5 + 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA + 0,2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e sob diferentes concentrações mio-inositol (0; 50 e 100 mg.L<sup>-1</sup>). Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.



## 4.2 Aclimatização

### 4.2.1 Avaliação do sistema de irrigação e da adição de casca de arroz carbonizada.

As análises de variância do experimento 2.1 estão nas Tabelas 57A a 62A (Anexo A). Na tabela 36B, verifica-se que houve interação significativa entre as variáveis sistema de irrigação e casca de arroz carbonizado (CAC) para a característica taxa de sobrevivência ( $p = 0,0169$ ).

Os valores médios para as características taxa de sobrevivência, número de folhas e altura média e máxima das folhas em função da cultivar, do sistema de irrigação e da adição ou não de CAC ao substrato são apresentados na Tabela 18.

TABELA 18: Taxa de sobrevivência e desenvolvimento da parte aérea em função da cultivar, do sistema de irrigação e da adição de casca de arroz carbonizada ao substrato Plantmax®. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

Cultivar	Sist. Irrigação	Casca de Arroz Carb.	Taxa Sobrev.	Núm. Folhas	Altura Máx Folhas (cm)	Altura Méd Folhas (cm)
AC	Flutuação	Com	96,0	2,5	25,1	18,1
ASA	Flutuação	Com	92,0	2,2	34,3	24,5
AC	Flutuação	Sem	32,0	2,8	23,3	15,4
ASA	Flutuação	Sem	46,0	2,1	28,1	20,7
AC	Aspersão	Com	49,0	1,7	22,6	17,7
ASA	Aspersão	Com	92,0	2,5	28,7	20,5
AC	Aspersão	Sem	47,0	1,6	16,5	13,7
ASA	Aspersão	Sem	71,0	2,7	24,3	16,5
CV(%)	-	-	36,47	18,65	26,28	21,90

Com relação à taxa de sobrevivência, quando se utilizou CAC adicionada ao substrato comercial Plantmax®, verificou-se superioridade do sistema de irrigação por flutuação. Entretanto, quando foi utilizado o substrato sem adição de CAC, o sistema de irrigação por aspersão foi superior (Tabela 19, Figura 10). Isso ocorreu, provavelmente, pela manutenção da umidade constante em um substrato bastante arejado como no caso do Plantmax® + CAC, proporcionando bom desenvolvimento das plantas em aclimatização. Em contrapartida, quando o substrato não foi adicionado de CAC, observou-se menor taxa de sobrevivência de plantas em função, provavelmente, da falta de arejamento provocada pelo excessivo molhamento que o sistema de irrigação por flutuação proporcionou.

Para as características relativas ao desenvolvimento da parte aérea (número, altura média e máxima das folhas), não se verificou interação significativa entre sistema de irrigação e adição de CAC ao substrato.

TABELA 19: Taxa de sobrevivência em % de plantas de mandioquinha-salsa, cvs. Amarela de Senador Amaral e Amarela Comum em função do sistema de irrigação e da adição de CAC ao substrato. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

Sistema de irrigação	Casca de arroz carbonizada (CAC)		p
	Com	Sem	
Flutuação	94,0 aA	39,0 b B	0,0002
Aspersão	70,5 bA	59,0 aA	0,3417
p	0,0604	0,1058	

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

**TABELA 22: Taxa de sobrevivência e desenvolvimento da parte aérea em função da cultivar. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.**

Cultivar	Taxa Sobrev.	Núm. Folhas	Altura Máx. Folhas (cm)	Altura Méd. Folhas (cm)
AC	56,0 <b>b</b>	2,2 <b>a</b>	21,9 <b>b</b>	16,2 <b>b</b>
ASA	75,3 <b>a</b>	2,4 <b>a</b>	27,7 <b>a</b>	20,6 <b>a</b>
P	0,0168	0,1108	0,0020	0,0025
Ep	5,351	0,095	1,489	0,901

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

Possivelmente, a automação de um sistema de microaspersão regulado para as necessidades da mandioquinha-salsa na fase de aclimatização tenha efeito positivo.

Entretanto, para as condições do experimento, o sistema de irrigação por flutuação com adição de CAC ao Plantmax® foi o tratamento que apresentou os melhores resultados, assegurando elevadas taxas de sobrevivência (96% para a cv. Amarela de Senador Amaral e 92% para a cv. Amarela Comum) e melhor desenvolvimento de plantas durante a aclimatização e estabelecimento.

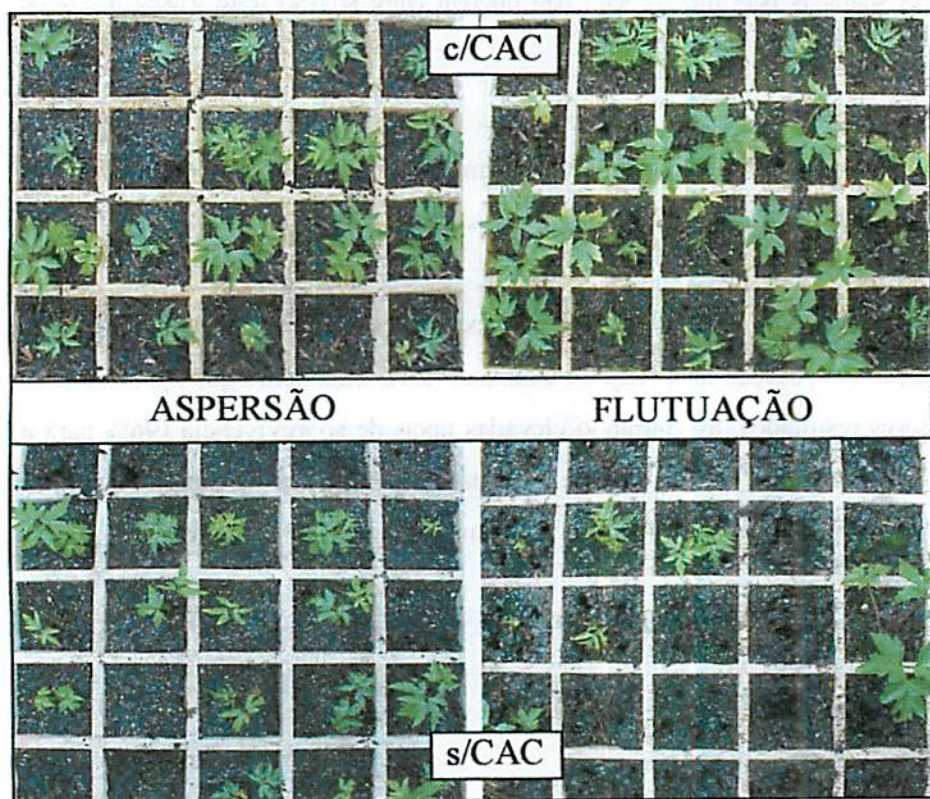


FIGURA 10: Aclimatização de plantas de mandioquinha-salsa em substrato comercial adicionado ou não de CAC e sob dois sistemas de irrigação, flutuação e aspersion. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

Foi obtido maior número de folhas no sistema de irrigação por flutuação, provavelmente em consequência do efeito benéfico após o pegamento da planta do molhamento ininterrupto. Com relação à altura média e à máxima das folhas, não foram observadas diferenças significativas; entretanto, percebe-se uma tendência de superioridade do sistema de irrigação por flutuação ( $p = 0,0556$  para altura máxima das folhas) (Tabela 20).

As plantas desenvolveram-se e apresentaram maior altura média e máxima em substrato comercial Plantmax<sup>®</sup> adicionado de casca de arroz carbonizada na proporção de 1:3 (casca de arroz : substrato comercial), provavelmente pelo efeito de arejamento do substrato, tornando-o mais leve, facilitando o enraizamento inicial das plantas em aclimatização (Tabela 21).

**TABELA 20: Desenvolvimento da parte aérea em função do sistema de irrigação. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.**

Sistema de Irrigação	Núm. Folhas	Altura Máx. Folhas	Altura Méd. Folhas
Flutuação	2,5 a	27,6 a	19,7 a
Aspersão	2,1 b	23,5 a	17,7 a
p	0,1235	0,0872	0,1163
Ep	0,134	2,107	1,274

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

TABELA 21: Desenvolvimento da parte aérea em função da adição de CAC ao substrato Plantmax®. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

Sistema de Irrigação	Núm. Folhas	Altura Máx. Folhas	Altura Méd. Folhas
Flutuação	2,2 a	27,7 a	20,2 a
Aspersão	2,3 a	23,1 a	16,6 a
p	0,4173	0,0087	0,0377
Ep	0,095	2,609	1,489

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

Entre as duas cultivares, a Amarela de Senador Amaral apresentou maior taxa de sobrevivência e maior altura média e máxima das folhas (Tabela 22). As temperaturas máximas oscilaram entre 34 e 41°C, muito acima do ideal para a cultura da mandioquinha-salsa. É possível que a cv. Amarela de Senador Amaral seja mais tolerante a altas temperaturas. Esta hipótese é baseada na origem dos dois materiais em questão.

A cultivar Amarela Comum foi introduzida no Brasil no início do século passado, vinda diretamente de região pertencente ao centro de origem da cultura, vales andinos da Colômbia, regiões de clima ameno, com altitudes em torno de 2500 m. Diferentemente, a cultivar Amarela de Senador Amaral foi obtida a partir de sementes botânicas coletadas no Sul de Minas Gerais. Os clones originados destas sementes foram então avaliados e selecionados no Distrito Federal. Logo, o ambiente em que se realizou a seleção muito provavelmente interferiu para que a cv. gerada fosse mais adaptada a temperaturas mais elevadas que aquelas cultivadas nas tradicionais regiões de cultivo, mais frias que o Distrito Federal.

#### **4.2.2 Avaliação do corte basal das plantas**

As análises de variância do experimento 2.2 estão nas Tabelas 63A a 66A (Anexo A), em que se verifica que não houve interação significativa para nenhuma das características avaliadas.

Em razão da excessiva formação de calos e do fraco enraizamento, observados sempre que se obteve o desenvolvimento de plantas aptas à aclimatização, foi testado, neste experimento, o efeito do corte basal do calo. Se, por um lado, um corte basal poderia estar promovendo melhor enraizamento, à semelhança do que ocorre com mudas convencionais no momento do plantio in vivo, em que usualmente se efetua um corte em bisel, por outro, o corte do calo poderia estar atrasando o desenvolvimento das plantas, em função da perda de reservas e do estresse da muda em etapa delicada como a aclimatização, e servindo como porta de entrada para infecções bacterianas que são propagadas pela água de irrigação, especialmente bactérias do gênero *Erwinia*.

Os valores médios para as características taxa de sobrevivência, número de folhas e sua altura média e máxima em função da cultivar e da execução ou não de corte basal são apresentados na Tabela 22.

Entre as duas cultivares não foram verificadas diferenças significativas para nenhuma das características avaliadas, com taxa de sobrevivência média de 63,5%, 3,2 folhas, altura média das folhas de 41,8 mm e altura máxima das folhas de 54,2 mm.

TABELA 22: Taxa de sobrevivência e desenvolvimento da parte aérea em função da adição da cultivar e do corte basal das plantas. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

Cultivar	Corte Basal	Taxa Sobrev. (%)	Núm. Folhas	Altura Méd. Folhas (cm)	Altura Máx. Folhas (cm)
AC	Com	44,7	2,6	35,1	45,8
ASA	Com	48,8	2,5	31,9	41,9
AC	Sem	78,0	3,7	52,4	68,5
ASA	Sem	82,2	3,6	48,6	60,3
CV(%)	-	23,78	39,44	12,33	16,64

As plantas sem corte foram superiores em todas as características avaliadas (Tabela 23). Possivelmente, o enraizamento ocorre mais prontamente quando não se corta o calo na parte basal das plantas. A ocorrência de apodrecimento característico de infecção bacteriana por *Erwinia* sp., em que as plantas, antes de seu murchamento tinham sua porção basal amolecida e em seguida apodrecida, foi observada principalmente quando se efetuou o corte basal. Este corte funciona como porta de entrada, expondo camadas internas do calo, aumentando a ocorrência de apodrecimento de plantas e resultando em menor taxa de sobrevivência. Cabe ressaltar que à época em que foi realizado este experimento, fevereiro e março, a temperatura atingiu até 42°C na casa de vegetação, temperatura extremamente favorável ao desenvolvimento de bactérias. De forma semelhante, no plantio convencional em épocas ou locais sob altas temperaturas, o corte basal efetuado nos propágulos de mandioquinha-salsa para formar as mudas proporciona elevada ocorrência de infecção bacteriana.

A Figura 11 mostra esquematicamente plantas de mandioquinha-salsa que receberam o corte basal em bisel no momento da aclimatização, em comparação a mudas que não receberam corte.



TABELA 23: Taxa de sobrevivência e desenvolvimento da parte aérea em função do corte basal das plantas. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

Corte Basal	Taxa Sobrev. (%)	Núm. Folhas	Altura Méd. Folhas (cm)	Altura Máx. Folhas (cm)
Com	46,7 <b>b</b>	3,1 <b>a</b>	33,1 <b>b</b>	43,7 <b>b</b>
Sem	80,8 <b>a</b>	3,2 <b>a</b>	51,1 <b>a</b>	66,9 <b>a</b>
p	0,0114	0,8137	0,0018	0,0072
Ep	3,541	0,270	1,262	2,169

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

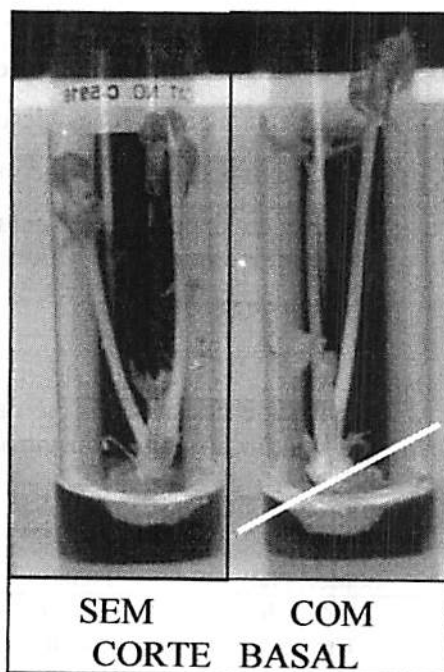


FIGURA 11: Representação esquemática do corte basal do calo de plantas de mandioca-salsa no momento da aclimatização. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

## 4.3 Desenvolvimento In Vivo

### 4.3.1 Avaliação do desenvolvimento inicial

As análises de variância do experimento 3.1 estão nas Tabelas 67A a 69A (Anexo A). Os valores médios para as características taxa de sobrevivência, número de folhas e altura das folhas são apresentados na Tabela 24.

A baixa taxa de sobrevivência das matrizes (geração 0) deve-se ao fato de que a casa de vegetação apresentou temperaturas muito altas (até 42°C), acima do ideal para mandioquinha-salsa.

As plantas de primeira e de segunda geração apresentaram desenvolvimento inicial superior ao das plantas matrizes (Tabela 24, Figura 12), provavelmente pelo efeito benéfico de maior sanidade, proporcionada pela cultura de tecidos, que se reflete em maior vigor no desenvolvimento inicial das plantas. No entanto, apesar do vigor superior, refletido no desenvolvimento até os 30 dias pelo maior número de folhas e maior altura destas, as plantas de

Tabela 24: Taxa de sobrevivência e desenvolvimento da parte aérea em função da geração com relação ao cultivo in vitro. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

Gerção	Taxa Sobrev. (%)	Núm. Folhas	Altura das Folhas (cm)
Matrizes	75,2 b	2,2 c	7,0 b
Plantas de 1º Geração	100,0 a	6,4 b	14,3 a
Plantas de 2º Geração	100,0 a	7,7 a	14,5 a
p	0,0197	0,0000	0,0000
Ep	5,539	0,277	0,392

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

mandioquinha-salsa oriundas do cultivo in vitro durante os dois primeiros ciclos de multiplicação apresentaram porte inferior e menor número de filhotes em relação a plantas propagadas convencionalmente. Por isso, estes materiais não foram avaliados quanto à produtividade. Com o avançar das gerações, o material oriundo de cultura de tecidos vai ganhando em porte e vigor, expressando seu potencial produtivo pleno. Fato semelhante ocorre com alho, em que as primeiras gerações após o cultivo in vitro produzem bulbilhos pequenos (Resende, 1993). Isso ocorre quando se utilizam explantes pequenos, com poucos milímetros, como neste trabalho; se forem utilizados explantes maiores com cerca de 1 cm, a recuperação do porte será sensivelmente mais rápida. Entretanto, quando se objetiva efetuar limpeza clonal para vírus, explantes maiores só são utilizados quando se dispõe de plantas matrizes sadias e cultivadas em locais isolados.

O material de primeira e segunda geração testado neste experimento, oriundo de cultura de tecidos, foi levado para teste em campo aberto em abril de 2004, passando para a segunda e terceira multiplicação, respectivamente. Preliminarmente, as plantas oriundas de cultura de tecidos estão apresentando maior vigor na brotação e coloração verde intensa, mais escura que o material convencionalmente propagado. Enquanto no material propagado convencionalmente é comum o amarelecimento e a senescência de folhas baixas, no material originado a partir da cultura de tecidos não se observam folhas nestas condições.



**FIGURA 12:** Plantas de mandiocquinha-salsa com 28 dias obtidas a partir da cultura de tecidos, em primeira e segunda geração in vivo, em comparação com as plantas matrizes fornecedoras de explantes. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

### **4.3.2 Produção em campo**

As análises de variância do experimento 3.2 estão nas Tabelas 70A a 81A (Anexo A). Os valores médios de produtividade por cada classe, produtividade comercial e total em função dos materiais testados são apresentados na Tabela 25.

Cabe ressaltar que o material avaliado foi gerado por uma empresa comercial, não se dispondo de informações precisas com relação a tamanho de explante. Além disso, certamente o material não foi indexado. Portanto, a avaliação feita é somente um indicativo do potencial produtivo de plantas de mandioquinha-salsa oriundas de cultura de tecidos, mas não se pode fazer nenhuma inferência com relação à carga viral e a sua correlação com a produtividade obtida.

As plantas obtidas a partir de cultura de tecidos da cultivar Amarela de Senador Amaral apresentaram, em relação a plantas propagadas convencionalmente desta mesma cultivar, incremento produtivo de 51,2% para produtividade comercial e 51,3% para produtividade total (Tabela 25).

Buscando padronizar a classificação, dentro do “Programa Brasileiro para a Modernização da Horticultura” adotado para as hortaliças e frutas de maior consumo, visando à padronização e transparência na comercialização, preços justos e diferenciados pela qualidade, redução de perdas, maior qualidade e ampliação do consumo, a Ceagesp vem propondo a adoção de quatro classes comerciais (Ceagesp, 2002). Atualmente, esta central adota três classes comerciais, as Extra AAA, Extra AA e Extra A, com valores de mercado da ordem de 2 : 1,5 : 1 (Ceagesp, 2004). Pela classificação proposta, a classe de maior valor comercial, Extra AAA, equivale às classes propostas 18 e 12; a classe Extra AA, à classe 9; e a classe Extra A, à classe 6.

**TABELA 25: Produtividade por classe, produtividade comercial e total em função do material de cultivo. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2004.**

Cultivar	Clas. 18 (t.ha <sup>-1</sup> )	Clas. 12 (t.ha <sup>-1</sup> )	Clas. 9 (t.ha <sup>-1</sup> )	Clas. 6 (t.ha <sup>-1</sup> )	Refugio (t.ha <sup>-1</sup> )	Prod. Com. (t.ha <sup>-1</sup> )	Prod. Total (t.ha <sup>-1</sup> )
ASA-CT	1,22 a	11,68 a	7,43 a	4,19 a	1,17 a	24,52 a	25,69 a
ASA	0,0 b	8,43 b	3,83 b	3,95 a	0,76 a	16,21 b	17,00 b
p	0,0003	0,0000	0,0007	0,2304	0,2037	0,0000	0,0000
Ep	0,193	0,497	0,441	0,389	0,230	1,033	0,731

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

Classificação comercial proposta pelo Ceagesp (2002)

O refugo e, conseqüentemente, a produção comercial foram semelhantes entre os dois materiais, o propagado convencionalmente pelos produtores e o originário de cultura de tecidos. Entretanto, a porcentagem de raízes das classes 9, 12 e 18 (Ceagesp, 2002), de maior valor comercial, foi superior no material oriundo de cultura de tecidos (Tabela 26).

O peso médio de raízes foi 35,7% maior no material oriundo de cultura de tecidos (Tabela 26).

**TABELA 26:** Porcentagem da produção por classe e da produção comercial em função do material de cultivo. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2004.

Cultivar	Clas 18 (%)	Clas12 (%)	Class 9 (%)	Class 6 (%)	Peso Méd (g)	Cl 9+12+18 (%)	Prod.Com (%)	Refugo (%)
ASA-CT	4,7	45,5	28,8	16,3	88,2 a	84,9 a	96,0 a	4,0 a
ASA	0,0	49,4	22,4	22,9	65,0 b	72,7 b	95,5 a	4,5 a
P	-	-	-	-	0,0001	0,0150	0,0325	0,0327
Ep	-	-	-	-	2,700	3,044	1,275	1,28

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

Com relação à caracterização morfológica, não foram observadas diferenças entre os materiais ASA-CT e ASA, indicando que provavelmente não ocorreu variação somaclonal durante o cultivo *in vitro*. Para efeitos de comparação, apresenta-se também a caracterização morfológica feita em plantas da cv. Amarela Comum (Tabela 27).

A Figura 13 mostra plantas oriundas de cultura de tecidos em comparação com plantas convencionalmente propagadas, além de uma vista geral do campo de multiplicação.

**TABELA 27: Caracterização morfológica em função do material de cultivo. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2004.**

	ASA-CT	ASA	AC
Porte da planta	médio	médio	médio a grande
Cor das folhas	verde escuro	verde escuro	verde
Cor do pecíolo	verde averm.	verde averm.	verde
Cor da base do pecíolo	verde violeta	verde violeta	verde averm.
Cor das raízes	amarela	amarela	amarela
Formato das raízes	cilíndrico	cilíndrico	cônico
Inserção das raízes	pequena	pequena	grande
Coloração do xilema	amarelo	amarelo	amarelo claro
Ápice radicular	suave arred.	suave arred.	cônico
Reentrâncias nas raízes	poucas	poucas	poucas



À semelhança do que ocorre com outras culturas, como batata, morango, alho e batata-doce, a mandioquinha-salsa respondeu positivamente em produtividade à utilização de mudas obtidas a partir da cultura de tecidos. É importante considerar que o material testado não foi indexado e foi multiplicado em campo aberto por um ciclo sem controle fitossanitário específico; portanto, pode ter havido algum grau de degenerescência do material oriundo do cultivo in vitro. É muito provável que o incremento produtivo proporcionado por esta tecnologia será maior quando se estabelecer um programa de multiplicação em ambiente isolado.

É importante investigar com maior profundidade o efeito desta tecnologia. Para isso, há que se determinar as taxas de degenerescência em campo, de modo a avaliar sua viabilidade econômica. De modo a aumentar o número de gerações em campo, em que o material originário do cultivo in vitro apresente superioridade ao material convencionalmente propagado, torna-se necessária a adoção de práticas culturais simples como o isolamento do material obtido a partir da cultura de tecidos e o controle de plantas infestantes hospedeiras de patógenos, principalmente de etiologia viral, que infectem mandioquinha-salsa. Para tanto, é fundamental conhecer os patógenos que estão infectando a cultura no Brasil, de modo a subsidiar o estabelecimento de estratégias de manejo cultural para a manutenção da produtividade da produção de mandioquinha-salsa. A partir do conhecimento dos patógenos infestantes em mandioquinha-salsa, deve-se estabelecer metodologia de indexação para vírus.

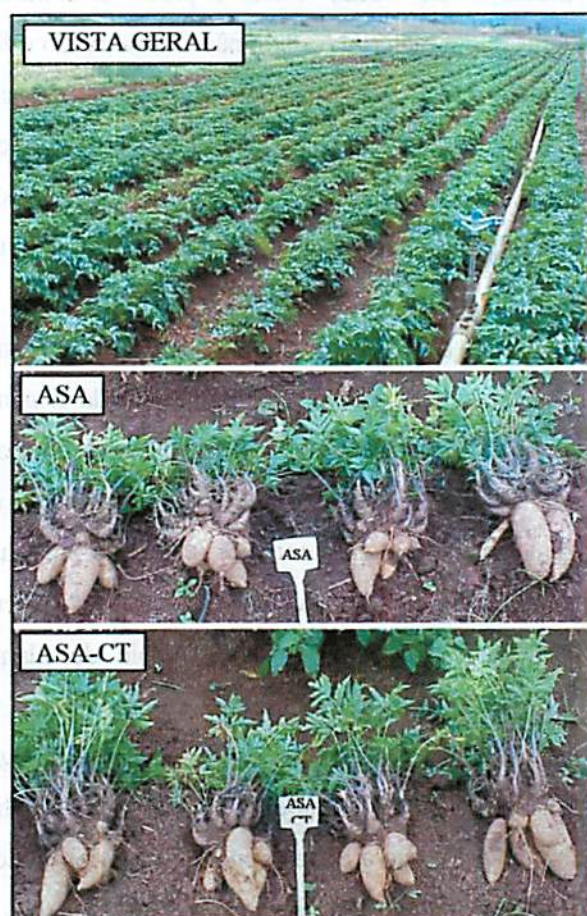


FIGURA 13: Produção de plantas de mandioca-salsa da cv. Amarela de Senador Amaral oriunda de cultura de tecidos em comparação com plantas convencionalmente propagadas e vista geral do campo de multiplicação. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2004.

## 4.4 Vírus em mandioquinha-salsa no Brasil

### 4.4.1 Inoculação mecânica em círculo de hospedeiros

A Tabela 28 mostra os resultados obtidos com a inoculação de amostras foliares de mandioquinha-salsa em doze plantas indicadoras: *Chenopodium quinoa*, *Chenopodium amaranticolor*, *Datura stramonium*, *Datura metel*, *Gomphrena globosa*, *Physalis floridana*, *Nicandra physaloides*, *Capsicum annuum* PI 679, *Capsicum annuum* cv. Ikeda, *Nicotiana benthamiana*, *Nicotiana tabacum* e *Nicotiana glauca*.

TABELA 28: Reação à inoculação mecânica em gama de hospedeiros. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

Planta	Plantas Indicadoras											
	<i>Gomphrena globosa</i>	<i>Physalis floridana</i>	<i>Nicandra physaloides</i>	<i>Datura Metel</i>	<i>Datura stramonium</i>	<i>Chenopodium Quinoa</i>	<i>Chenopodium amaranticolor</i>	<i>Nicotiana tabacum</i>	<i>Nicotiana Sansum</i>	<i>Nicotiana benthamiana</i>	<i>Capsicum annuum</i> 'Ikeda'	<i>Capsicum annuum</i> 'PI 679'
S1	-	-	-	-	-	llc	llc	-	ms	ms	-	-
S1-1	-	-	-	-	-	llc	-	-	-	nn	-	-
S1-2	-	-	-	-	-	llc	llc	-	-	ms	-	-
S1-3	-	-	-	-	-	llc	llc	-	-	ms	-	-
S1-4	-	-	-	-	-	llc	-	-	-	-	-	-

llc = lesão local clorótica; ms = mosaico sistêmico; nn = necrose das nervuras

Os resultados indicaram que a infecção de etiologia viral pôde ser confirmada utilizando *Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor* e *Nicotiana benthamiana* como plantas indicadoras, pelo menos considerando os vírus presentes, ainda que esse ou esses não estejam identificados. Estas indicadoras, sistematicamente, apresentaram as mesmas reações, independentemente da origem da amostra, da sua idade ou da época de inoculação. Em *C. quinoa* e *C. amaranticolor*, observaram-se lesões locais cloróticas, evoluindo, por vezes, para lesões locais necróticas, e em *N. benthamiana*, mosaico sistêmico ou lesões necróticas nas nervuras (Figura 14).

As cinco plantas testadas apresentaram reação positiva, indicando a presença de vírus, tanto na planta matriz S1 quanto nas plantas obtidas pela cultura de gemas apicais a partir da planta S1; S1-1, S1-2, S1-3 e S1-4. Portanto, neste caso, a cultura de gemas apicais não levou à produção de nenhuma planta livre de vírus, dentre as quatro testadas. Isso era esperado em função do tamanho de explante utilizado, gema apical com cerca de 5 mm de comprimento. Para a regeneração de plantas isentas de vírus, deve-se utilizar explantes menores, ápices caulinares meristemáticos (Luz et al., 1997). Segundo Bonin (1988), explantes maiores que 0,5 mm de comprimento diminuem em muito as chances de obtenção de plantas livres de vírus.

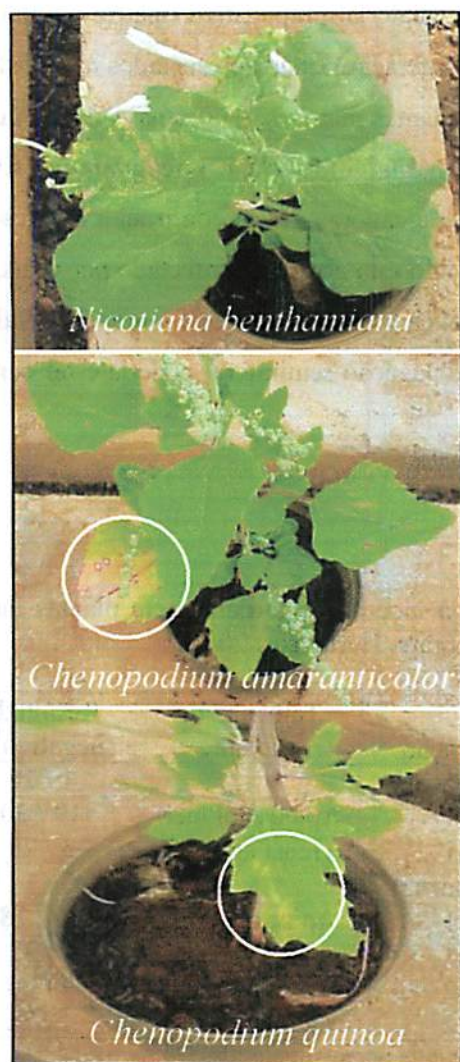


FIGURA 14: Sintomas de infecção por vírus isolados de amostras de plantas de mandioquinha-salsa em *Nicotiana benthamiana*, *Chenopodium quinoa* e *C. amaranticolor*. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

#### 4.4.2 Indexação pela inoculação mecânica em plantas indicadoras

Os resultados da inoculação mecânica em plantas indicadoras em função da cultivar e do tipo de material propagativo (matriz ou planta micropropagada em primeira ou segunda geração) estão apresentados na Tabela 29.

A maioria das plantas matrizes, 95,0% na Amarela de Carandaí e 78,6% na Amarela de Senador Amaral (Tabela 12), reagiram positivamente quando da inoculação em plantas indicadoras, o que confirma a hipótese de que o material tradicionalmente cultivado está altamente infectado por vírus, mesmo a Amarela de Senador Amaral, lançada em 1998 pela Embrapa Hortaliças. Esta cultivar, por ter passado pela propagação semínifera, poderia estar com menores taxas de infecção.

TABELA 29: Reação à inoculação mecânica em plantas indicadoras. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2004.

Cultivar	Geração	Tamanho de explante	Resultado negativo <sup>1,2</sup>	Resultado negativo (%) <sup>2</sup>
AC	0 (matriz)	-	1 / 20	5,0
AC	1	Ápice caul.mer.	19 / 30	63,3
AC	1	Gema apical 2	3 / 20	15,0
ASA	0 (matriz)	-	3 / 14	21,4
ASA	1	Ápice caul.mer	10 / 18	55,6
ASA	1	Gema apical 2	1 / 32	3,1
ASA	2	Ápice caul.mer	7 / 20	35,0
ASA	2	Gema apical 2	1 / 22	4,5

1 - Plantas negativas / total de plantas analisadas.

2 - Os resultados referem-se à avaliação conjunta das indicadoras *Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor* e *Nicotiana benthamiana*.

A contaminação provavelmente vem ocorrendo porque este material é cultivado lado a lado com os materiais tradicionais, o que certamente, no caso de ter havido uma limpeza viral pela propagação sexuada, proporcionou a reinfecção por vírus. Todavia, é possível que as plantas matrizes que apresentaram reação negativa representem escape. Não foi possível repetir os testes das quatro plantas matrizes que na primeira série de inoculações reagiram negativamente em virtude da perda destas plantas. Elas morreram provavelmente em função das altas temperaturas verificadas dentro da casa de vegetação, o que favoreceu o desenvolvimento de bactérias, especialmente *Erwinia*. Assim que este problema foi detectado, pela observação de murchamento das folhas, as plantas foram transferidas para casa de vegetação com melhor condição climática, mas algumas já estavam comprometidas, dentre elas as quatro plantas citadas acima.

Verificou-se, com relação a plantas de primeira geração após o cultivo in vitro, que 55,6 % das plantas regeneradas da cv. Amarela de Senador Amaral e 63,3 % da cv. Amarela Comum obtidas a partir de ápices caulinares meristemáticos com cerca de 0,4 mm não apresentaram reação positiva pela inoculação em plantas indicadoras. Quanto a plantas regeneradas a partir de gemas apicais com cerca de 2 mm, 15,0 % para a cv. Amarela Comum e 3,1 % para a cv. Amarela de Senador Amaral não reagiram positivamente (Tabela 29).

Com relação a plantas de segunda geração após o cultivo in vitro, 35,0 % das plantas regeneradas a partir de ápices caulinares meristemáticos com cerca de 0,4 mm da cv. Amarela de Senador Amaral não apresentaram reação positiva pela inoculação em plantas indicadoras. Quanto a plantas regeneradas a partir de gemas apicais com cerca de 2 mm da cv. Amarela de Senador Amaral, 4,5 % delas não reagiram positivamente (Tabela 29).

É possível que as plantas originadas a partir de gemas apicais com 2 mm que não reagiram positivamente às inoculações apresentem baixa carga viral,

abaixo da sensibilidade do teste utilizado (Dusi, 1989), pois a cultura de tecidos utilizando explantes deste tamanho não regenera plantas livres de vírus (Caldas et al., 1998).

Não se pode fazer uma comparação direta entre as plantas de primeira e de segunda geração, pois as populações iniciais são diferentes.

Dentro de um programa de produção de plantas sanitizadas, aquelas que apresentaram resultado positivo na indexação para vírus devem ser descartadas.

A Figura 15 mostra as plantas indicadoras utilizadas, um aspecto geral da indexação realizada para mandioquinha-salsa e, em destaque, uma planta inoculada com extrato foliar da planta matriz Amarela Comum # 17, fornecedora de amostras para microscopia eletrônica e sequenciamento da capa protéica do vírus que está infectando mandioquinha-salsa.





FIGURA 15: Indexação em plantas indicadoras. Em destaque, planta de *Nicotiana benthamiana* inoculada com extrato foliar de planta da cv. Amarela Comum # 17. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

#### 4.4.3 Caracterização de vírus em mandioquinha-salsa no Brasil

- Um isolado denominado C17, obtido a partir de plantas da cv. Amarela de Carandaí, e que induziu lesões locais cloróticas em *Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor* e mosaico sistêmico em *Nicotiana benthamiana* foi avaliado por microscopia eletrônica. Foram observadas partículas flexuosas e alongadas, características do gênero *Potyvirus* (pesquisador Dr. Guy de Capdeville, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, informação pessoal).

- O mesmo isolado citado no item acima teve o gene da capa protéica parcialmente sequenciado, o equivalente a um fragmento de aproximadamente um terço do tamanho desta. O sequenciamento foi feito pela equipe técnica da Embrapa Hortaliças, em trabalho coordenado pela pesquisadora Dra. Alice Nagata, pela técnica de PCR (A.N.Dusi, informação pessoal). Foi observado elevado grau de similaridade ao *Bean common mosaic necrosis virus* (BCMNV), da ordem de 94 %. O resultado do teste de similaridade é apresentado na Tabela 1B (Anexo B).

- Foram realizados testes Elisa Indireto para o AP-1, utilizando-se anti-soro e controle positivo obtido junto ao Centro Internacional de la Papa (CIP). Foram testadas plantas matrizes das cultivares Amarela de Senador Amaral e Amarela de Carandaí, além de outros clones constantes do banco de germoplasma de mandioquinha-salsa da Embrapa Hortaliças. Os testes foram realizados pela equipe técnica da Embrapa Hortaliças, sob coordenação do pesquisador Dr. André Dusi. Houve fraca reação com o anti-soro para AP-1, indicativo de possível reação heteróloga, isto é, reação entre o anti-soro para AP-1 e algum outro vírus. Para que isso ocorra, este vírus deve ter elevado grau de

similaridade ao AP-1. Os resultados dos testes realizados são apresentados na Tabela 1C (Anexo C).

Os estudos de caracterização de vírus infectando mandioquinha-salsa no Brasil estão em andamento na Embrapa Hortaliças, sob coordenação do pesquisador Dr. André N. Dusi.

## 5 CONCLUSÕES

- O meio de cultura de Gamborg (Meio B5), adicionado de  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$  de ANA,  $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$  de BAP e  $0,25$  de  $\text{GA}_3$ , é o meio mais adequado à multiplicação *in vitro* de mandioquinha-salsa, promovendo taxas de regeneração superiores a 95% e bom desenvolvimento de plantas vigorosas, aptas à aclimatização em poucas semanas.
- A aclimatização em casa de vegetação sombreada em bandejas de poliestireno expandido (isopor) contendo substrato comercial usualmente utilizado para hortaliças, adicionado de casca de arroz carbonizada a 25% (v/v) e irrigado pelo método de flutuação e sem corte basal do calo, é o método que proporciona as maiores taxas de pegamento *in vivo*, superiores a 92%.
- As plantas obtidas por cultura de tecidos, seja pela cultura de ápices caulinares meristemáticos ou pela cultura de gemas apicais, são mais vigorosas.
- A cultura de ápices caulinares meristemáticos com cerca de  $0,4 \text{ mm}$  proporciona maior número de plantas que reagem negativamente aos testes de indexação pela inoculação em plantas indicadoras.
- Há evidências de que o material de mandioquinha-salsa cultivado no Brasil está infectado por um *Potyvirus*.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCARINI, J. H.; MAZOCATO, M. A.; COSTA, O. G. P. da; LUENGO, R. de F. A. Hortifrutigranjeiros, crescimento exponencial **Agroanalysis**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 12, p. 26-34, dez. 1999.

ASSIS, M. de. **Micropropagation of fruit crops with emphasis on strawberry**. 1978. 80 p. Thesis (Doctor in Agriculture) – University of Wisconsin, Madison.

ASSIS, M. de. Novas tecnologias na propagação de batata. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 197, p. 30-33, 1999a.

ASSIS, M. de. Sanidade do material vegetativo na produção de mudas de morangueiro. In: DUARTE FILHO et al. (Coords.) **Morango - tecnologia de produção e processamento**. Caldas: EPAMIG, 1999b. 280 p.

ÁVILA, A. C.; BEEK, M. A. Principais viroses. In: REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Coord.). **Produção de batata**. Brasília: CNPH, 1987. p. 103-117

BALBINO, J. M. S.; PREZOTTI, L. C.; FORNAZIER, M. J.; COSTA, H.; HOLZ FILHO, F. **Cultura da batata-baroa**. Vitória: EMCAPA, 1990. 27 p. (EMCAPA. Manual de Cultura, 2).

BETTI, J. A. Controle de viroses do morangueiro. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 22, n. 1, p. 74-75, 1996.

BONIN, V. **Obtenção e multiplicação in vitro de batateiras (Solanum tuberosum L.) isentas de vírus Y (PVY)**. 1988. 68 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

BRIOSO, P. S. T.; LEAL, N. R.; CUNHA, L. F. C. Vírus incitante do mosaico da batata-doce: estimativa de redução na produtividade da cultura. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 2, p. 146, mar. 1989.

BUSTAMANTE, P. G. **Melhoramento de batata-baroa (Arracacia xanthorrhiza Bancroft) I. biologia floral; obtenção e caracterização de clones; correlações genóticas, fenotípicas e de ambiente**. 1994. 92 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

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

CÂMARA, F. L. A.; CUPERTINO, F. P.; FILGUEIRA, F. A. R. Redução na produtividade de cultivares de batata causada por vírus. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 4, n. 4, p. 8-10, out., 1986.

CÂMARA, F. L. A. Mandioquinha-salsa: grande potencial com novas técnicas. **Pesquisa Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 6, n. 2, p. 25-27, jun. 1993.

CARMO, S.; SANTOS, F. F. dos. Clones de mandioquinha-salsa para as regiões produtoras do Espírito Santo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 3, p.279, nov. 1999.

CARVALHO, A. C. P.; LEAL, N. R. Avaliação de clones de batata doce livres de vírus através da cultura de meristema in vitro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 8, n. 1, p. 38, maio 1990.

CARVALHO, M. G. Viroses do alho. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 12, n. 142, p. 41-46, out. 1986.

CASTILLO, R. Manejo e conservação de germoplasma de tuberosas andinas. CIP: Quito, 1991. 7 p. Informe final de consultoria para el Centro Internacional de la Papa - CIP.

CASTRO, L. A. S.; DANIELS, J. Efeito do vírus do mosaico deformante da batata na produtividade da cultivar Baronesa. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 2, p. LL, 1991. Suplemento.

CEAGESP – Companhia de entrepostos e armazéns gerais de São Paulo. **Classificação da Mandioquinha salsa (Batata baroa, batata salsa, batata fiúza, batata aipo, aipim branco)**. *Arracacia xanthorrhiza* Bancroft. São Paulo: Ceagesp, 2002. Cartilha.

CEAGESP – Companhia de entrepostos e armazéns gerais de São Paulo. **Cotações - Legumes** São Paulo: Ceagesp, 2004. Disponível em: <<http://www.ceagesp.com.br>> Acesso em: 25 mar. 2004.

CECÍLIO FILHO, A. B.; REIS, M. dos S.; SOUZA, R. J. de; PASQUAL, M. Degenerescência em cultivares de batata-doce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 1, p. 82-84, maio 1998.

CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA – CIP **Principales enfermedades, nematodos e insectos de la papa**. Lima, Peru, 1983. 95 p.

CEVALLOS, A.; CASTILLO, R. Respuesta de ocho líneas de zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza* B.) a la introducción in vitro. In: REUNION NACIONAL SOBRE RECURSOS FITOGENETICOS, 1., 1991, Quito. **Memorias...** Quito: INIAP, 1991. p. 109-115.

CONCI, V. C.; MORICONI, D. N.; NOME, S. F. Cultivo de meristemas apicais de seis tipos clonales de ajo (*Allium sativum* L.). **Phyton**, Vicente Lopez, v. 46, n. 2, p. 187-194, 1986.

CONCI, V. C.; NOME, S. F. Virus free garlic (*Allium sativum* L.) plants obtained by thermotherapy and meristem-tip culture. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 132, n. 2, p. 186-192, mar. 1991.

CONCI, V. C.; NOME, S. F.; MILNE, R. G. Filamentous viruses of garlic in Argentina. **Plant Disease**, St. Paul, v. 76, n. 6, p. 594-596, jun. 1992.

COSTA, A. S. Viroses de algumas umbelíferas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 10, n. 120, p. 44-49, dez. 1984.

DANIELS, J. **Regeneração de clones de alho (*Allium sativum* L.) infectados por um Potyvirus**. 1977. 56p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília.

DIAS, M. S. C. Doenças do morangueiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 198, p. 69-74, maio/jun. 1999.

DIJKSTRA, J.; JAGER, C. P. **de Practical plant virology – protocols and exercises** 1998. Berlin: Springer, 1998. 459 p.

DUQUE, L. M **Compilacion de los medios de cultivo in vitro de raices y tuberculos andinos en el CIP: Zanahoria blanca**. Quito: CIP, 1993. 2 p.

DUSI, A. N.; FAJARDO, T. V. M.; CUPERTINO, F. P. Serological identification of garlic (*Allium sativum* L.) viruses in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, p.298, ago. 1994. Suplemento

DUSI, A. N.; ORÍLIO, A. F. C.; TORRES, A. C.; BUSO, J. A. Innoculum source distance and the spread of viruses in garlic. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, p.302, ago. 2003. Suplemento

DUSI, A. N. Utilização da combinação de anti-soros na detecção simultânea de PVS, PVX e PVY em batata-semente. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 14, n. 2, p. 302, mar. 1989.

FAJARDO, T. V. M. Estudo da degenerescência por viroses e caracterização molecular do complexo viral da cultura do alho (*Allium sativum* L.). 1998. 121 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília.

FIGUEIRA, A. dos R. Doenças causadas por vírus em umbelíferas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 183, p. 70-73, 1995.

FIGUEIRA, A. dos R. **Manejo de doenças viróticas**. Lavras: Ufla/Faepe, 2000. 95 p.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: cultura e comercialização de hortaliças**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2000. 650 p.

FLETCHER, P. J.; FLETCHER, J. D. In vitro virus elimination in three Andean root crops: Oca (*Oxalis tuberosa*), ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas) and arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*). **New-Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, Auckland, v. 29, n. 1, p. 23-27, 2001.

GAMBORG, O. L.; MILLER, R. A.; OJIMA, K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. **Experimental Cell Research**, New York, n. 50, p. 151-158, 1968.

GARCIA, A.; BIMA, P. Micropropagación de cultivares de ajo adaptadas a la región centro-norte de Argentina. In: **CURSO/TALLER SOBRE PRODUCCIÓN, COMERCIALIZACIÓN E INDUSTRIALIZACIÓN DE AJO**, 8., 2003, La Consulta. **Curso/Taller...** Mendoza: INTA, 2003. p. 37-38.



GARCIA, A.; PETERS, J. A.; CASTRO, L. A. S. Formação de estoques pré-básicos de alho-semente e estudo de sensibilidade da cultura à infecção por vírus. **Hortisul**, Pelotas, v. 1, n. 1, p. 42-44, 1989.

GIORDANO, L. de B.; SANTOS, F. F. dos; HENZ, G. P.; MOITA, A. W. Avaliação de clones de mandioquinha-salsa no Distrito Federal provenientes de sementes botânicas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 13, n. 2, p. 188-191, nov. 1995.

GRAICHEN, K.; KROMAT, H.; MEYER, U. Effect of virus infection on the yield performance of the garlic cultivar Thuringer. **Gartenbau**, Aschersleben, v. 5, n. 9, p. 266-267, 1988.

GRATTAPAGLIA, P.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L. S. (Coords.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/Embrapa Hortaliças, 1990. p. 99-169.

GROPPO, G. A.; TESSAROLI NETO, J. A cultura do morangueiro. 2ª. ed. Campinas: CATI, 1993, 16 p. (Boletim técnico, 201).

GUIMARÃES, P. T. C.; PASQUAL, M.; MIRANDA, A. M. P. de Efeito de diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose sobre a propagação in vitro de samambaia-espada [*Nephrolepisaxaltata* (L.) Schott]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 2, p. 309-316, abr/jun. 1999.

HENZ, G. P. **Doenças de mandioquinha-salsa e sua situação atual no Brasil**. 2002. 178 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília.

HERMANN, M. Arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) **Andean roots and tubers**: Ahipa, arracacha, maca and yacon. Rome: IPGRI, 1997. p.75-172.

ISHIKAWA, S. F. T. **Utilização da primeira geração clonal da cultivar Chiquita na produção de batata (*Solanum tuberosum* L.)**. 1985. 69 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras.

JONES, R. A. C.; KENTEN, R. H. Arracacha virus A, a newly recognized virus infecting arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*, Umbelliferae) in Peruvian Andes. **Annals of Applied Biology**, Wellesbourne, v. 90, n. 1, p. 85-91, 1978.

KENTEN, R. H.; JONES, R. A. C. Arracacha virus B: A second isometric virus infecting arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*, Umbelliferae) in Peruvian Andes. **Annals of Applied Biology**, Wellesbourne, v. 93, n. 1, p. 31-36, 1979.

KITAJIMA, E. W.; POZZER, L. Doenças causadas por vírus em batata-doce, beterraba, cará, gengibre e inhame. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 183, p. 70-73, 1995.

LIMA, D. de B.; SANTOS, F. F. dos; CÁSSIA, R. M. Avaliação da cultivar de mandiocinha-salsa 'Amarela de Senador Amaral' em comparação com a cultivar 'Amarela comum', no Sul de Minas Gerais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 3, p. 323, nov. 1999.

LIZÁRRAGA, C.; CHUQUILLANQUI, G.; JAYASINGHE, U. Un variante del virus del anillo necrotico de la papa (Potato black ringspot virus, PBRV) aislado de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*). **Fitopatología**, Lima, v. 29, n. 1, p. 144-149, 1994.

LIZÁRRAGA, C.; PANTA, A.; JAYASHINGHE, U.; DODDS, J. **Cultivo de tejidos para la eliminacion de patogenos**. Lima: CIP, 1991. 21 p. (Guia de investigación CIP 3).

LIZÁRRAGA, C. **Progress in the identification of the viruses infecting Andean root and tuber crops**. Lima, Peru: CIP, 1997. 10 p.

LIZÁRRAGA, C.; SANTA CRUZ, M.; MARCA, J. L.; SALAZAR, L. F. La importancia de los virus que infectan a *Ullucus tuberosus* Caldas em el Peru. **Fitopatología**, Lima, v. 34, n. 1, p. 22-28, 1999.

LOVE, S. L.; RHODES, B. B.; MOYER, J. W. **Meristem-tip culture and virus indexing of sweet potatoes: practical manuals for handling crop germplasm in vitro**. Rome: IBPGR/HEADQUARTERS, 1987. 46 p.

LUNELLO, P.; NOME, S.; CONCI, V. C. Reinfecção a campo de plantas de ajo livres de virus com Poty e Alexivirus. In: **CURSO/TALLER SOBRE PRODUCCIÓN, COMERCIALIZACIÓN E INDUSTRIALIZACIÓN DE AJO**, 7, 2001, La Consulta. **Curso/Taller...** Mendoza: INTA, 2001. p.129-130.

**LUZ, J. M. Q. Obtenção "in vitro" de plantas de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) via cultura de meristemas. 1993. 52 p. Tese (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras.**

**LUZ, J. M. Q.; PASQUAL, M.; SOUZA, R. J. de Cultura de tecidos e biotecnologia em mandioca-salsa. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 19, n. 190, p. 18-21, 1997.**

**MADEIRA, N. R. Avaliação de novos clones de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) na região de Lavras. 2000a. 58 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.**

**MADEIRA, N. R. Processos de obtenção de mudas de mandioca-salsa. Horticultura Brasileira, Brasília, v. 18, n. 3, p. 249-250, nov. 2000b.**

**MÁRTON, L.; BUSO, J. A.; DUSI, A. N.; MELO, P. E. de Degenerescência devido a viroses em cultivares de batata. Horticultura Brasileira, Brasília, v. 11, n. 1, p. 82, jan.1993.**

**MELO FILHO, P. A. Detecção e caracterização molecular de Alexivirus e estudo da degenerescência em plantas de alho (*Allium sativum* L.) provocada por vírus. 2003. 134 p. Tese (Doutorado em Biologia) – Universidade de Brasília, Brasília.**

**MINAMI, K. Produção de mudas de alta qualidade em horticultura. São Paulo: T. A. Queiroz, 1995. 128 p.**

**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Secretaria Nacional de Produção Agropecuária – SNAP. Normas gerais para certificação de batata-semente. Brasília, 1989. 23 p.**

**MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, Lund, v. 15, n. 4, p. 473-497, 1962.**

**MYERS, J. M.; SIMON, P. W., FONSECA, M. E. N.; BOITEAUX, L. S. Evaluation of garlic germplasm for OYDV and LYSV infection using dot blot Elisa. HortScience, Mount Vernon, v. 32, n. 3, p. 469, 1997.**

NGEVE, J. M. Yield stability and yield depression in sweet potato cultivares susceptible to sweet potato virus disease. *Journal Horticultural Science*, Ashford, v. 65, n. 2, p. 225-230, 1990.

PAVAN, M. A.; GUIMARÃES, A. M.; KAMITSUJI, M. K.; MATSUMOTO, S. N. Amostragem da incidência de viroses em cultivares de alho nobre (*Allium sativum* L.) provenientes de regiões produtoras do Estado de Santa Catarina. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 14, n. 2, p. 136, 1989.

PEREIRA, A. S. Mandioquinha-salsa: alimento protéico, energético ou nutracêutico? *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 18, n. 3, p. 246-249, nov. 2000.

PESSOA, A. C. S.; VIEIRA, R. C. ; ESQUIBEL, M. A. Introduction and histogenesis of calli from petiole explants of Peruvian carrot (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft). *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, Curitiba, v. 37, n. 2, p. 231-246, 1994.

PETERS, J. A.; CASTRO, L. A. S.; GARCIA, A.; PATELLA, A. E. C. Cultura de meristemas e indexação de plantas de alho. *Hortisul*, Pelotas, v. 1, n. 1, p. 37-41, 1989a.

PETERS, S. A.; CASTRO, L. A. S. de; GARCIA, A.; PATELLA, A. S. Obtenção de plantas de batata-doce livres de doenças através da cultura de meristema. *Hortisul*, Pelotas, v. 1, n. 1, p. 33-36, 1989b.

POZZER, L. Caracterização de um isolado de Sweet potato feathery mottle virus em batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) e avaliação das perdas na produção devido à infecção. 1993. 117p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília.

POZZER, L.; DUSI, A. N.; SILVA, J. B. Estudo da degenerescência da batata-doce (*Ipomoea batatas*). *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 17, n. 20, p. 187, 1992.

POZZER, L.; DUSI, A. N.; SILVA, J. B. C.; KITAJIMA, E. W. Avaliação da taxa de reinfecção de plantas de batata doce livres de vírus pelo Sweet potato feathery mottle virus em condições de campo. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 19, n. 2, p. 231-234, jun. 1994.

REGENMORTEL, M. H. Van.; FAUQUET, C. M.; BISHOP, D. H. L.; CARSTENS, E. B.; ESTES, M. K.; LEMON, S. M.; MANILOFF, J.; MAYO, M. A.; McGEOCH, D. J.; PRINGLE, C. R.; WICKNER, R. B. (Ed.). **Virus taxonomy classification and nomenclature of viruses: seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. San Diego: Academic Press, 2000. 1161 p.

REIS, M. dos S. **Influência da cultura de meristema na produtividade de batata doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)**. 1995. 29 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

RESENDE, F. V. **Comportamento em condições de campo de plantas de alho (*Allium sativum* L.) obtidas por cultura de meristemas**. 1993. 63p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras.

RESENDE, F. V.; SOUZA, R. J. de; PASQUAL, M. **Comportamento em condições de campo de clones de alho obtidos por cultura de meristema**. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 13, n. 1, p. 44-46, maio 1995.

RUSSOWSKI, D.; NICOLOSO, F. T. **Nitrogênio e fósforo no crescimento de plantas de ginseng brasileiro [*Pfaffia glomerata* (SPRENG.) PEDERSEN] in vitro cultured plants**. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 1, p. 18-25, jan./fev. 2003.

SANTOS, F. F. dos; CARMO, S. **Mandioquinha-salsa - manejo cultural**. Brasília: Embrapa-SPI / Embrapa-CNPQ, 1998. 79 p.

SANTOS, F. F. dos. **Clima, cultivares e época de plantio da mandioquinha-salsa**. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 19, n. 190, p. 27-28, 1997a.

SANTOS, F. F. dos; COSTA, G. P. da; MACEDO, P. de; KRIECK, R. da S. **Mandioquinha-salsa no agronegócio do estado do Paraná**. Curitiba: EMATER-PR / Embrapa-SPI, 2000. 56 p. (Informação Técnica, 51).

SANTOS, F. F. dos; LIMA, D. de B. **Validação de tecnologia para a difusão de novo clone de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft)**. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 14, n. 1, p. 114, maio 1996.

SANTOS, F. F. dos **Mandioquinha-salsa “Amarela de Senador Amaral”**  
Brasília: SPI/CNPH, 2001. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/cultivares/Mandioquinha.html>> Acesso em: 05 ago. 2003.

SANTOS, F. F. dos. Utilização de mudas juvenis e pré-enraizamento no impedimento da floração em mandioquinha-salsa. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 19, n. 190, p. 35-37, 1997b.

SEDIYAMA, M. A. N.; CASALI, V. W. D. Propagação vegetativa da mandioquinha-salsa. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 19, n. 190, p. 24-27, 1997.

SENNA NETO, N. **Micropropagação de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft)**. 1990. 53p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SILVA, S. O.; SOUZA, A. S.; PAZ, O. P. da. Efeito da multiplicação *in vitro* na produtividade da batata doce. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 3, n. 1, p. 47-52, jan. 1991.

SIQUEIRA, W. J. **Desempenho agronômico e estabilidade fenotípica de clones de alho (*Allium sativum* L.) derivados de cultivo *in vitro* de ápices caulinares**. 1997. 136 p. Tese (Doutorado em Agricultura) – Universidade de Campinas, Campinas.

SIQUEIRA, W. J.; EIRAS, M.; TESSAROLI NETO, J.; AZEVEDO FILHO, J. A.; CARVALHO, C. R. L.; MARQUES, M. O. M.; LOURENÇÃO, A. L.; BUSO, J. A. Terceiro ano de avaliação de comportamento de clones de alho livres de vírus no Estado de São Paulo **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 29, n. 1, p. 51, 2003.

SOARES, L. **Melhoramento de batata-baroa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft). II. Divergência genética entre clones com base em procedimentos multivariados e estimativas de parâmetros genéticos**. 1991. 75 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SOUZA-DIAS, J. A. C. de. Batata com Laranja – produção de minitubérculos de batata-semente via plantio de broto livre de vírus aumenta a renda de citricultores. **Cultivar HF**, Pelotas, v. 2, n. 9, p. 8-11, ago./set. 2001.

SOUZA, E. L. dos; SOUZA, J. de A. Produção de plantas de batata livres de vírus. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS, 1., 1986, Brasília. **Anais....** Brasília: CNPH / Embrapa, 1986. p. 21-24.

SOUZA, R. J. de. **Cultura da mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*)**. Lavras: ESAL, 1992. 8 p. (ESAL. Circular v. 1, n. 1).

TANABE, C. M. N. **Avaliação da degenerescência em campo causada por fitovirose na cultura do alho (*Allium sativum* L.)**. 1999. 92 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Brasília, Brasília.

TEIXEIRA, C. P. **Obtenção “in vitro” de mudas de morangueiro (*Fragaria ananassa* Duvh) via cultura de meristema**. 1988. 56 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras

TORRES, A. C.; TEIXEIRA, D. M. C.; MOITA, A. W.; CAMPOS, M. de A. Recuperação de plantas de batata-doce livres de vírus a partir da regeneração direta de ápices caulinares. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 8, n. 3, p. 209-213, 1996.

TORRES, A. C.; TEIXEIRA, S. L.; POZZER, L. Cultura de ápices caulinares e recuperação de plantas livres de vírus. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L.S. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI / Embrapa-CNPH, 1998. p. 133-145.

TORRES, A. C.; DUSI, A. N.; RESENDE, R. de O.; BUSO, J. A. **Produção de alho-semente com alta qualidade fitossanitária mediante cultura de ápices caulinares**. Brasília: CNPH, 2001. 4 p. (Circular Técnica, 27)

WALKEY, D. G. A.; WEBB, M. J. W.; BOLLAND, C. I.; MILLER, A. Production of virus-free garlic (*Allium sativum* L.) and shallot (*Allium ascalonicum* L.) by meristem-tip culture. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 62, n. 2, p. 211-220, 1987.

WALKEY, D.G.A.; ANTILL, D.N. Agronomic evaluation of virus-free and virus-infected garlic (*Allium sativum* L.). **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 64, n. 1, p. 53-60, 1989.

## 7 ANEXOS

### ANEXO A

**TABELA 1A: Análise de variância do experimento 1.1, avaliação dos meios B5 e MS, característica taxa de regeneração. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	183.333333	61.111111	0.604	0.6222
Meio de cultura	1	416.666667	416.666667	4.121	0.0605
Regulador de Crescimento	2	4933.333333	2466.666667	24.396	0.0000
Meio Cult. x Reg.Cresc.	2	533.333333	266.666667	2.637	0.1044
Erro	15	1516.666667	101.111111		
Total corrigido	23	7583.333333			
CV (%) = 12.70	Média geral: 79.1666667		Número de observações: 24		

**TABELA 2A: Análise de variância do experimento 1.1, avaliação dos meios B5 e MS, característica tamanho de calos. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	9.330000	3.110000	1.643	0.2216
Meio de cultura	1	42.666667	42.666667	22.543	0.0003
Regulador de Crescimento	2	568.373333	284.186667	150.151	0.0000
Meio Cult. x Reg.Cresc.	2	44.373333	22.186667	11.722	0.0009
Erro	15	28.390000	1.892667		
Total corrigido	23	693.133333			
CV (%) = 35.89	Média geral: 3.8333333		Número de observações: 24		

**TABELA 3A: Análise de variância do experimento 1.1, avaliação dos meios B5 e MS, característica tamanho de calos, desdobramento de meio de cultura dentro de cada regulador de crescimento. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Meio de Cultura / AIB	1	5.120000	5.120000	2.705	0.1208
Meio de Cultura / AIB + BAP	1	81.920000	81.920000	43.283	0.0000
Meio de Cultura / SEM	1	0.000000	0.000000	0.000	1.0000
Resíduo	15	28.390000	1.892667		



**TABELA 4A: Análise de variância do experimento 1.1, avaliação dos meios B5 e MS, característica tamanho de calos, desdobramento de regulador de crescimento dentro de cada meio de cultura. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Regulador de Crescimento / B5	2	462.746667	231.373333	122.247	0.0000
Regulador de Crescimento / MS	2	150.000000	75.000000	39.627	0.0000
Resíduo	15	28.390000	1.892667		

**TABELA 5A: Análise de variância do experimento 1.1, avaliação dos meios B5 e MS, característica número de folhas. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	0.331250	0.110417	0.442	0.7263
Meio de cultura	1	0.770417	0.770417	3.085	0.0994
Regulador de Crescimento	2	59.767500	29.883750	119.655	0.0000
Meio Cult. x Reg.Cresc.	2	0.530833	0.265417	1.063	0.3701
Erro	15	3.746250	0.249750		
Total corrigido	23	65.146250			
CV (%) = 19.89	Média geral: 2.5125000		Número de observações:24		

**TABELA 6A: Análise de variância do experimento 1.1, avaliação dos meios B5 e MS, característica altura média de folhas. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	90.130000	30.043333	1.155	0.3593
Meio de cultura.	1	34.560000	34.560000	1.329	0.2670
Regulador de crescimento	2	30.022500	15.011250	0.577	0.5734
Meio Cult. x Reg.Cresc.	2	598.822500	299.411250	11.514	0.0009
Erro	15	390.065000	26.004333		
Total corrigido	23	143.600000			
CV (%) = 21.52	Média geral: 23.7000000		Número de observações: 24		

**TABELA 7A: Análise de variância do experimento 1.1, avaliação dos meios B5 e MS, característica altura média de folhas, desdobramento de meio de cultura dentro de cada regulador de crescimento. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Meio de Cultura / AIB	1	48.511250	48.511250	1.866	0.1921
Meio de Cultura / AIB e BAP	1	546.151250	546.151250	21.002	0.0004
Meio de Cultura / SEM	1	38.720000	38.720000	1.489	0.2412
Resíduo	15	390.065000	26.004333		

**TABELA 8A: Análise de variância do experimento 1.1, avaliação dos meios B5 e MS, característica altura média de folhas, desdobramento de regulador de crescimento dentro de cada meio de cultura. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Regulador de Crescimento / B5	2	312.000000	156.000000	5.999	0.0116
Regulador de Crescimento / MS	2	316.845000	158.422500	6.092	0.0110
Resíduo	15	390.065000	26.004333		

**TABELA 9A: Análise de variância do experimento 1.1, avaliação dos meios B5 e MS, característica altura máxima de folhas. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	90.681250	30.227083	0.573	0.6414
Meio de cultura	1	774.070417	774.070417	14.674	0.0016
Regulador de Crescimento	2	1677.590833	838.795417	15.901	0.0002
Meio Cult. x Reg.Cresc.	2	2788.350833	1394.175417	26.429	0.0000
Erro	15	791.266250	52.751083		
Total corrigido	23	6121.959583			
CV (%) = 22.40		Média geral: 32.4208333			Número de observações: 24

TABELA 10A: Análise de variância do experimento 1.1, avaliação dos meios B5 e MS, característica altura máxima de folhas, desdobramento de meio de cultura dentro de cada regulador de crescimento. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Meio de Cultura / AIB	1	56.180000	56.180000	1.065	0.3184
Meio de Cultura / AIB e BAP	1	3494.480000	3494.480000	66.245	0.0000
Meio de Cultura / SEM	1	11.761250	11.761250	0.223	0.6436
Resíduo	15	791.266250	52.751083		

TABELA 11A: Análise de variância do experimento 1.1, avaliação dos meios B5 e MS, característica altura máxima de folhas, desdobramento de regulador de crescimento dentro de cada meio de cultura. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Regulador de Crescimento / B5	2	4343.360000	2171.680000	41.168	0.0000
Regulador de Crescimento / MS	2	122.581667	61.290833	1.162	0.3347
Resíduo	15	791.266250	52.751083		

TABELA 12A: Análise de variância do experimento 1.1, avaliação dos meios B5 e MS, característica índice de crescimento foliar. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	241.267917	80.422639	0.282	0.8377
Meio de Cultura	1	1113.843750	1113.843750	3.903	0.0669
Regulador de Crescimento	2	30537.303333	15268.651667	53.509	0.0000
Meio Cult. x Reg.Cresc.	2	6727.630000	3363.815000	11.789	0.0008
Erro	15	4280.184583	285.345639		
Total corrigido	23	42900.229583			
CV (%) = 28.97		Média geral: 58.3041667			Número de observações: 24

**TABELA 13A:** Análise de variância do experimento 1.1, avaliação dos meios B5 e MS, característica índice de crescimento foliar, desdobramento de meio de cultura dentro de cada regulador de crescimento. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Meio de Cultura / AIB	1	227.911250	227.911250	0.799	0.3856
Meio de Cultura / AIB e BAP	1	7435.901250	7435.901250	26.059	0.0001
Meio de Cultura / SEM	1	177.661250	177.661250	0.623	0.4424
Resíduo	15	4280.184583	285.345639		

**TABELA 14A:** Análise de variância do experimento 1.1, avaliação dos meios B5 e MS, característica índice de crescimento foliar, desdobramento de regulador de crescimento dentro de cada meio de cultura. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Regulador de Crescimento / B5	2	32874.811667	16437.405833	57.605	0.0000
Regulador de Crescimento / MS	2	4390.121667	2195.060833	7.693	0.0048
Resíduo	15	4280.184583	285.345639		

**TABELA 15A:** Análise de variância do experimento 1.1, avaliação dos meios B5 e MS, característica número de raízes. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	0.671667	0.223889	0.510	0.6813
Meio de cultura	1	0.006667	0.006667	0.015	0.9035
Regulador de Crescimento	2	5.642500	2.821250	6.428	0.0096
Meio Cult. x Reg.Cresc.	2	0.260833	0.130417	0.297	0.7472
Erro	15	6.583333	0.438889		
Total corrigido	23	13.165000			
CV (%) = 115.22		Média geral: 0.5750000			Número de observações: 24

**TABELA 16A: Análise de variância do experimento 1.1, avaliação dos meios B5 e MS, característica comprimento máximo de raízes. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	127.337917	42.445972	0.613	0.6171
Meio de cultura	1	194.370417	194.370417	2.807	0.1146
Regulador de Crescimento	2	247.260833	123.630417	1.785	0.2016
Meio Cult. x Reg.Cresc.	2	80.815833	40.407917	0.583	0.5701
Erro	15	1038.794583	69.252972		
<b>Total corrigido</b>	<b>23</b>	<b>1688.579583</b>			
<b>CV (%) = 182.73</b>	<b>Média geral: 4.5541667</b>		<b>Número de observações: 24</b>		

**TABELA 17A: Análise de variância do experimento 1.1, avaliação dos meios B5 e MS, característica comprimento médio de raízes. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2000.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	28.404583	9.468194	0.504	0.6856
Meio de cultura	1	75.260417	75.260417	4.003	0.0639
Regulador de Crescimento	2	108.365833	54.182917	2.882	0.0873
Meio Cult. x Reg.Cresc.	2	29.130833	14.565417	0.775	0.4785
Erro	15	282.047917	18.803194		
<b>Total corrigido</b>	<b>23</b>	<b>523.209583</b>			
<b>CV (%) = 131.57</b>	<b>Média geral: 3.2958333</b>		<b>Número de observações: 24</b>		

**TABELA 18A: Análise de variância do experimento 1.2, avaliação do tipo de auxina e da concentração de sais do meio MS, característica taxa de regeneração. Lavras/MG, Ufla, 2001.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	149.151250	49.717083	0.125	0.9442
Concentração Sais MS	1	78.843750	78.843750	0.197	0.6631
Reguladores de crescimento	2	17677.985833	8838.992917	22.137	0.0000
Conc.Sais MS x Regul.Cresc.	2	289.172500	144.586250	0.362	0.7021
Erro	15	5989.226250	399.281750		
<b>Total corrigido</b>	<b>23</b>	<b>24184.379583</b>			
<b>CV (%) = 31.76</b>	<b>Média geral: 62.9208333</b>		<b>Número de observações: 24</b>		

TABELA 19A: Análise de variância do experimento 1.2, avaliação do tipo de auxina e da concentração de sais do meio MS, característica tamanho de calos. Lavras/MG, Ufla, 2001.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	16.575000	5.525000	1.433	0.2723
Concentração Sais MS	1	9.375000	9.375000	2.432	0.1397
Reguladores de crescimento	2	64.823333	32.411667	8.409	0.0036
Conc.Sais MS x Regul.Cresc.	2	43.630000	21.815000	5.660	0.0147
Erro	15	57.815000	3.854333		
Total corrigido	23	192.218333			
CV (%) = 41.85		Média geral: 4.6916667			Número de observações: 24

TABELA 20A: Análise de variância do experimento 1.2, avaliação do tipo de auxina e da concentração de sais do meio MS, característica número de folhas. Lavras/MG, Ufla, 2001.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	0.924583	0.308194	1.587	0.2341
Concentração Sais MS	1	0.400417	0.400417	2.062	0.1715
Reguladores de crescimento	2	22.385833	11.192917	57.638	0.0000
Conc.Sais MS x Regul.Cresc.	2	3.985833	1.992917	10.262	0.0016
Erro	15	2.912917	0.194194		
Total corrigido	23	30.609583			
CV (%) = 19.13		Média geral: 2.3041667			Número de observações: 24

**TABELA 21A: Análise de variância do experimento 1.2, avaliação do tipo de auxina e da concentração de sais do meio MS, característica altura máxima de folhas. Lavras/MG, Ufla, 2001.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	31.591250	10.530417	0.462	0.7128
Concentração Sais MS	1	55.510417	55.510417	2.437	0.1394
Reguladores de crescimento	2	69.340833	34.670417	1.522	0.2502
Conc.Sais MS x Regul.Cresc.	2	45.605833	22.802917	1.001	0.3908
Erro	15	341.711250	22.780750		
Total corrigido	23	543.759583			
CV (%) = 26.60	Média geral: 17.9458333		Número de observações: 24		

**TABELA 22A: Análise de variância do experimento 1.2, avaliação do tipo de auxina e da concentração de sais do meio MS, característica altura média de folhas. Lavras/MG, Ufla, 2001.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	16.135000	5.378333	0.319	0.8118
Concentração Sais MS	1	24.401667	24.401667	1.446	0.2479
Reguladores de crescimento	2	31.427500	15.713750	0.931	0.4158
Conc.Sais MS x Regul.Cresc.	2	82.685833	41.342917	2.449	0.1201
Erro	15	253.215000	16.881000		
Total corrigido	23	407.865000			
CV (%) = 27.71	Média geral: 14.8250000		Número de observações: 24		

**TABELA 23A: Análise de variância do experimento 1.2, avaliação do tipo de auxina e da concentração de sais do meio MS, característica índice de crescimento foliar. Lavras/MG, Ufla, 2001.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	161.405000	53.801667	1.013	0.4145
Concentração Sais MS	1	245.760000	245.760000	4.627	0.0482
Reguladores de crescimento	2	2952.323333	1476.161667	27.790	0.0000
Conc.Sais MS x Regul.Cresc.	2	340.290000	170.145000	3.203	0.0694
Erro	15	796.780000	53.118667		
Total corrigido	23	4496.558333			
CV (%) = 22.50	Média geral: 32.3916667		Número de observações: 24		

**TABELA 24A:** Análise de variância do experimento 1.2, avaliação do tipo de auxina e da concentração de sais do meio MS, característica número de raízes. Lavras/MG, Ufla, 2001.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	0.405000	0.135000	0.549	0.6566
Concentração Sais MS	1	1.306667	1.306667	5.312	0.0359
Reguladores de crescimento	2	1.240833	0.620417	2.522	0.1137
Conc.Sais MS x Regul.Cresc.	2	2.735833	1.367917	5.561	0.0156
Erro	15	3.690000	0.246000		
<b>Total corrigido</b>	<b>23</b>	<b>9.378333</b>			
<b>CV (%) = 145.17</b>	<b>Média geral: 0.3416667</b>		<b>Número de observações: 24</b>		

**TABELA 25A:** Análise de variância do experimento 1.2, avaliação do tipo de auxina e da concentração de sais do meio MS, característica comprimento máximo de raízes. Lavras/MG, Ufla, 2001.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	7.843333	2.614444	0.727	0.5517
Concentração Sais MS	1	22.041667	22.041667	6.128	0.0257
Reguladores de crescimento	2	30.885833	15.442917	4.294	0.0335
Conc.Sais MS x Regul.Cresc.	2	45.350833	22.675417	6.304	0.0103
Erro	15	53.951667	3.596778		
<b>Total corrigido</b>	<b>23</b>	<b>160.0733333</b>			
<b>CV (%) = 153.77</b>	<b>Média geral: 1.2333333</b>		<b>Número de observações: 24</b>		

**TABELA 26A:** Análise de variância do experimento 1.2, avaliação do tipo de auxina e da concentração de sais do meio MS, característica comprimento médio de raízes. Lavras/MG, Ufla, 2001.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	5.216667	1.738889	0.673	0.5815
Concentração Sais MS	1	14.415000	14.415000	5.583	0.0321
Reguladores de crescimento	2	19.127500	9.563750	3.704	0.0493
Conc.Sais MS x Regul.Cresc.	2	31.172500	15.586250	6.037	0.0119
Erro	15	38.728333	2.581889		
<b>Total corrigido</b>	<b>23</b>	<b>108.660000</b>			
<b>CV (%) = 153.03</b>	<b>Média geral: 1.0500000</b>		<b>Número de observações: 24</b>		



TABELA 27A: Análise de variância do experimento 1.3, avaliação do tamanho de explante, característica taxa de regeneração. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	9.031250	3.010417	1.000	0.4199
Cultivar	1	3.010417	3.010417	1.000	0.3332
Tamanho de explante	2	6.020833	3.010417	1.000	0.3911
Cultivar x Tam.explante	2	6.020833	3.010417	1.000	0.3911
Erro	15	45.156250	3.010417		
Total corrigido	23	69.239583			
CV (%) = 1.74	Média geral: 99.6458333		Número de observações: 24		

TABELA 28A: Análise de variância do experimento 1.3, avaliação do tamanho de explante, característica tamanho de calos. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	20.588333	6.862778	7.622	0.0025
Cultivar	1	4.506667	4.506667	5.005	0.0409
Tamanho de explante	2	168.542500	84.271250	93.589	0.0000
Cultivar x Tam. explante	2	0.040833	0.020417	0.023	0.9776
Erro	15	13.506667	0.900444		
Total corrigido	23	207.185000			
CV (%) = 5.57	Média geral: 17.0250000		Número de observações: 24		

TABELA 29A: Análise de variância do experimento 1.3, avaliação do tamanho de explante, característica número de folhas. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	4.274583	1.424861	4.638	0.0174
Cultivar	1	6.510417	6.510417	21.193	0.0003
Tamanho de explante	2	0.333333	0.166667	0.543	0.5923
Cultivar x Tam. explante	2	1.773333	0.886667	2.886	0.0870
Erro	15	4.607917	0.3071944		
Total corrigido	23	17.499583			
CV (%) = 11.99	Média geral: 4.6208333		Número de observações: 24		

**TABELA 30A: Análise de variância do experimento 1.3, avaliação do tamanho de explante, característica altura máxima de folhas. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	2959.304583	986.434861	23.029	0.0000
Cultivar	1	412.510417	412.510417	9.630	0.0073
Tamanho de explante	2	1217.522500	608.761250	14.212	0.0003
Cultivar x Tam. explante	2	95.180833	47.590417	1.111	0.3548
Erro	15	642.507917	42.833861		
Total corrigido	23	5327.026250			
CV (%) = 9.95	Média geral: 65.7875000		Número de observações: 24		

**TABELA 31A: Análise de variância do experimento 1.3, avaliação do tamanho de explante, característica altura média de folhas. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	1074.298333	358.099444	16.219	0.0000
Cultivar	1	37.001667	37.001667	1.676	0.2150
Tamanho de explante	2	566.690833	283.345417	12.833	0.0006
Cultivar x Tam. explante	2	88.905833	44.452917	2.013	0.1681
Erro	15	331.181667	22.078778		
Total corrigido	23	2098.078333			
CV (%) = 11.73	Média geral: 40.0416667		Número de observações: 24		

**TABELA 32A: Análise de variância do experimento 1.3, avaliação do tamanho de explante, característica índice de crescimento foliar. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	5830.021667	1943.340556	2.175	0.1334
Cultivar	1	17388.166667	17388.166667	19.465	0.0005
Tamanho de explante	2	7388.882500	3694.441250	4.136	0.0371
Cultivar x Tam. explante	2	432.755833	216.377917	0.242	0.7879
Erro	15	13399.658333	893.310556		
Total corrigido	23	44439.485000			
CV (%) = 16.42	Média geral: 182.0750000		Número de observações: 24		

**TABELA 33A: Análise de variância do experimento 1.3, avaliação do tamanho de explante, característica número de raízes. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	0.458333	0.152778	1.279	0.3175
Cultivar	1	0.041667	0.041667	0.349	0.5636
Tamanho de explante	2	0.250000	0.125000	1.047	0.3754
Cultivar x Tam. explante	2	0.083333	0.041667	0.349	0.7111
Erro	15	1.791667	0.119444		
<b>Total corrigido</b>	<b>23</b>	<b>2.625000</b>			
<b>CV (%) = 276.49</b>	<b>Média geral: 0.1250000</b>		<b>Número de observações: 24</b>		

**TABELA 34A: Análise de variância do experimento 1.3, avaliação do tamanho de explante, característica comprimento máximo de raízes. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	15.458333	5.152778	0.412	0.7471
Cultivar	1	7.041667	7.041667	0.562	0.4649
Tamanho de explante	2	60.250000	30.125000	2.406	0.1241
Cultivar x Tam. explante	2	18.083333	9.041667	0.722	0.5018
Erro	15	187.791667	12.519444		
<b>Total corrigido</b>	<b>23</b>	<b>288.625000</b>			
<b>CV (%) = 166.51</b>	<b>Média geral: 2.1250000</b>		<b>Número de observações: 24</b>		

**TABELA 35A: Análise de variância do experimento 1.3, avaliação do tamanho de explante, característica comprimento médio de raízes. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Cultivar	1	6.000000	6.000000	1.195	0.2916
Tamanho de explante	2	25.333333	12.666667	2.522	0.1137
Cultivar x Tam. explante	2	9.000000	4.500000	0.896	0.4290
Erro	15	75.333333	5.022222		
<b>Total corrigido</b>	<b>23</b>	<b>125.833333</b>			
<b>CV (%) = 158.19</b>	<b>Média geral: 1.4166667</b>		<b>Número de observações: 24</b>		

TABELA 36A: Análise de variância do experimento 1.4, avaliação da concentração de BAP, característica taxa de regeneração. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	178.000000	59.333333	0.736	0.5469
Cultivar	1	32.666667	32.666667	0.405	0.5341
Concentração de BAP	2	187.777778	93.888889	1.164	0.3389
Cultivar x Conc. BAP	2	22.888889	11.444444	0.142	0.8689
Erro	15	1210.000000	80.666667		
Total corrigido	23	1631.333333			
CV (%) = 9.18		Média geral: 97.8333333			Número de observações: 24

TABELA 37A: Análise de variância do experimento 1.4, avaliação da concentração de BAP, característica diâmetro de calos. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	34.524583	11.508194	5.836	0.0075
Cultivar	1	5.900417	5.900417	2.992	0.1042
Concentração de BAP	2	58.248611	29.124306	14.769	0.0003
Cultivar x Conc. BAP	2	2.456056	1.228028	0.623	0.5498
Erro	15	29.579917	1.971994		
Total corrigido	23	130.709583			
CV (%) = 7.25		Média geral: 19.3708333			Número de observações: 24

TABELA 38A: Análise de variância do experimento 1.4, avaliação da concentração de BAP, característica número de folhas. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	1.075000	0.358333	0.489	0.6954
Cultivar	1	5.415000	5.415000	7.382	0.0159
Concentração de BAP	2	50.053492	25.026746	34.118	0.0000
Cultivar x Conc. BAP	2	4.338508	2.169254	2.957	0.0827
Erro	15	11.003000	0.733533		
Total corrigido	23	71.885000			
CV (%) = 23.63		Média geral: 3.6250000			Número de observações: 24

**TABELA 39A:** Análise de variância do experimento 1.4, avaliação da concentração de BAP, característica altura máxima de folhas. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	283.166667	94.388889	1.170	0.3542
Cultivar	1	188.160000	188.160000	2.331	0.1476
Concentração de BAP	2	6032.976190	3016.488095	37.375	0.0000
Cultivar x Conc. BAP	2	120.328476	60.164238	0.745	0.4913
Erro	15	1210.622000	80.708133		
Total corrigido	23	7835.253333			
CV (%) = 11.82	Média geral: 75.9833333		Número de observações: 24		

**TABELA 40A:** Análise de variância do experimento 1.4, avaliação da concentração de BAP, característica altura média de folhas. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	203.121667	67.707222	0.479	0.7014
Cultivar	1	1.706667	1.706667	0.012	0.9139
Concentração de BAP	2	9217.453075	4608.726538	32.637	0.0000
Cultivar x Conc. BAP	2	242.751591	121.375796	0.860	0.4432
Erro	15	2118.165333	141.211022		
Total corrigido	23	11783.198333			
CV (%) = 21.56	Média geral: 55.1083333		Número de observações: 24		

**TABELA 41A:** Análise de variância do experimento 1.4, avaliação da concentração de BAP, característica índice de crescimento foliar. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	2643.365000	881.121667	0.905	0.4617
Cultivar	1	12303.481667	12303.481667	12.641	0.0029
Concentração de BAP	2	15875.625298	7937.812649	8.155	0.0040
Cultivar x Conc. BAP	2	6567.957702	3283.978851	3.374	0.0617
Erro	15	14599.768667	973.317911		
Total corrigido	23	51990.198333			
CV (%) = 18.59	Média geral: 167.7916667		Número de observações: 24		

**TABELA 42A:** Análise de variância do experimento 1.4, avaliação da concentração de BAP, característica número de raízes. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	0.525000	0.175000	1.899	0.1731
Cultivar	1	0.041667	0.041667	0.452	0.5115
Concentração de BAP	2	0.406885	0.203442	2.208	0.1444
Cultivar x Conc. BAP	2	-1.7218254E-0002	-8.609127E-0003	-0.093	1.0000
Erro	15	1.382000	0.092133		
Total corrigido	23	2.338333			
CV (%) = 125.60	Média geral: 0.2416667		Número de observações: 24		

**TABELA 43A:** Análise de variância do experimento 1.4, avaliação da concentração de BAP, característica comprimento máximo de raízes. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	42.458333	14.152778	1.236	0.3314
Cultivar	1	9.375000	9.375000	0.819	0.3799
Concentração de BAP	2	33.640873	16.820437	1.469	0.2615
Cultivar x Conc. BAP	2	10.725794	5.362897	0.468	0.6349
Erro	15	171.758333	11.450556		
Total corrigido	23	267.958333			
CV (%) = 137.65	Média geral: 2.4583333		Número de observações: 24		

**TABELA 44A:** Análise de variância do experimento 1.4, avaliação da concentração de BAP, característica comprimento médio de raízes. Brasília/DF, Embrapa Rec. Gen. e Biot., 2001.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	23.784583	7.928194	1.159	0.3581
Cultivar	1	7.150417	7.150417	1.045	0.3229
Concentração de BAP	2	9.726885	4.863442	0.711	0.5071
Cultivar x Conc. BAP	2	5.647615	2.823808	0.413	0.6692
Erro	15	102.650083	6.843339		
Total corrigido	23	148.959583			
CV (%) = 133.87	Média geral: 1.9541667		Número de observações: 24		

TABELA 45A: Análise de variância do experimento 1.5, avaliação da concentração de GA<sub>3</sub>, característica taxa de regeneração. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	945.833333	315.277778	1.988	0.1591
Cultivar	1	204.166667	204.166667	1.287	0.2744
Concentração de GA <sub>3</sub>	2	1058.333333	529.166667	3.336	0.0633
Cultivar x Conc. GA <sub>3</sub>	2	108.333333	54.166667	0.342	0.7161
Erro	15	2379.166667	158.611111		
Total corrigido	23	4695.833333			
CV (%) = 14.46		Média geral: 87.0833333			Número de observações: 24

TABELA 46A: Análise de variância do experimento 1.5, avaliação da concentração de GA<sub>3</sub>, característica tamanho de calos. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	8.076667	2.692222	2.220	0.1280
Cultivar	1	9.626667	9.626667	7.937	0.0130
Concentração de GA <sub>3</sub>	2	9.363333	4.681667	3.860	0.0444
Cultivar x Conc. GA <sub>3</sub>	2	0.853333	0.426667	0.352	0.7091
Erro	15	18.193333	1.212889		
Total corrigido	23	46.113333			
CV (%) = 15.81		Média geral: 6.9666667			Número de observações: 24

TABELA 47A: Análise de variância do experimento 1.5, avaliação da concentração de GA<sub>3</sub>, característica número de folhas. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	0.767917	0.255972	0.586	0.6336
Cultivar	1	3.300417	3.300417	7.553	0.0149
Concentração de GA <sub>3</sub>	2	0.752500	0.376250	0.861	0.4426
Cultivar x Conc. GA <sub>3</sub>	2	0.010833	0.005417	0.012	0.9877
Erro	15	6.554583	0.436972		
Total corrigido	23	11.386250			
CV (%) = 21.24		Média geral: 3.1125000			Número de observações: 24

TABELA 48A: Análise de variância do experimento 1.5, avaliação da concentração de GA<sub>3</sub>, característica altura máxima de folhas. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	177.684583	59.228194	3.132	0.0570
Cultivar	1	0.033750	0.033750	0.002	0.9669
Concentração de GA <sub>3</sub>	2	654.570000	327.285000	17.307	0.0001
Cultivar x Conc. GA <sub>3</sub>	2	33.690000	16.845000	0.891	0.4310
Erro	15	283.657917	18.910528		
Total corrigido	23	1149.636250			
CV (%) = 16.75		Média geral: 25.9625000			Número de observações: 24

TABELA 49A: Análise de variância do experimento 1.5, avaliação da concentração de GA<sub>3</sub>, característica altura média de folhas. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	54.551667	18.183889	4.586	0.0180
Cultivar	1	0.135000	0.135000	0.034	0.8561
Concentração de GA <sub>3</sub>	2	154.830000	77.415000	19.523	0.0001
Cultivar x Conc. GA <sub>3</sub>	2	4.630000	2.315000	0.584	0.5699
Erro	15	59.478333	3.965222		
Total corrigido	23	273.625000			
CV (%) = 11.63		Média geral: 17.1250000			Número de observações: 24

TABELA 50A: Análise de variância do experimento 1.5, avaliação da concentração de GA<sub>3</sub>, característica índice de crescimento de folhas. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	1503.943333	501.314444	3.965	0.0289
Cultivar	1	847.281667	847.281667	6.701	0.0206
Concentração de GA <sub>3</sub>	2	1661.543333	830.771667	6.571	0.0089
Cultivar x Conc. GA <sub>3</sub>	2	24.023333	12.011667	0.095	0.9099
Erro	15	1896.501667	126.433444		
Total corrigido	23	5933.293333			
CV (%) = 21.20		Média geral: 53.0333333			Número de observações: 24



TABELA 51A: Análise de variância do experimento 1.6, avaliação da concentração de mio-inositol, característica taxa de regeneração. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	843.000000	281.000000	2.974	0.0652
Cultivar	1	988.166667	988.166667	10.457	0.0056
Concentração Mio-inositol	2	356.333333	178.166667	1.885	0.1860
Cultivar x Conc. GA <sub>3</sub>	2	1046.333333	523.166667	5.536	0.0158
Erro	15	1417.500000	94.500000		
Total corrigido	23	4651.333333			
CV (%) = 11.81		Média geral: 82.3333333			Número de observações: 24

TABELA 52A: Análise de variância do experimento 1.6, avaliação da concentração de mio-inositol, característica tamanho de calos. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	0.163333	0.054444	0.135	0.9380
Cultivar	1	3.526667	3.526667	8.713	0.0099
Concentração Mio-inositol	2	2.205833	1.102917	2.725	0.0979
Cultivar x Conc. Mio-inos.	2	0.085833	0.042917	0.106	0.9001
Erro	15	6.071102	0.404740		
Total corrigido	23	12.053333			
CV (%) = 11.03		Média geral: 5.7666667			Número de observações: 24

TABELA 53A: Análise de variância do experimento 1.6, avaliação da concentração de mio-inositol, característica número de folhas. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	0.941250	0.313750	2.133	0.1388
Cultivar	1	3.153750	3.153750	21.442	0.0003
Concentração Mio-inositol	2	0.457500	0.228750	1.555	0.2433
Cultivar x Conc. Mio-inos.	2	1.067500	0.533750	3.629	0.0518
Erro	15	2.206250	0.147083		
Total corrigido	23	7.826250			
CV (%) = 12.42		Média geral: 3.0875000			Número de observações: 24

TABELA 54A: Análise de variância do experimento 1.6, avaliação da concentração de mio-inositol, característica altura máxima de folhas. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	6.671667	2.223889	0.244	0.8642
Cultivar	1	3.081667	3.081667	0.338	0.5694
Concentração Mio-inositol	2	64.563333	32.281667	3.545	0.0548
Cultivar x Conc. Mio-inos.	2	6.543333	3.271667	0.359	0.7040
Erro	15	136.578333	9.105222		
Total corrigido	23	217.438333			
CV (%) = 15.71		Média geral: 19.2083333			Número de observações: 24

TABELA 55A: Análise de variância do experimento 1.6, avaliação da concentração de mio-inositol, característica altura média de folhas. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	15.177917	5.059306	1.731	0.2035
Cultivar	1	2.100417	2.100417	0.719	0.4099
Concentração Mio-inositol	2	20.257500	10.128750	3.465	0.0579
Cultivar x Conc. Mio-inos.	2	4.205833	2.102917	0.719	0.5031
Erro	15	43.844583	2.922972		
Total corrigido	23	85.586250			
CV (%) = 12.38		Média geral: 13.8125000			Número de observações: 24

TABELA 56A: Análise de variância do experimento 1.6, avaliação da concentração de mio-inositol, característica índice de crescimento foliar. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2002.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	66.724583	22.241528	0.499	0.6887
Cultivar	1	341.260417	341.260417	7.654	0.0144
Concentração Mio-inositol	2	181.110000	90.555000	2.031	0.1657
Cultivar x Conc. Mio-inos.	2	39.463333	19.731667	0.443	0.6505
Erro	15	668.817917	44.587861		
Total corrigido	23	1297.376250			
CV (%) = 15.92		Média geral: 41.9375000			Número de observações: 24

**TABELA 57A:** Análise de variância do experimento 2.1, avaliação do sistema de irrigação e da adição de casca de arroz carbonizada (CAC) ao substrato, característica taxa de sobrevivência. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	4	462.500000	115.625000	0.476	0.7553
Sistema de Irrigação	1	30.625000	30.625000	0.126	0.7406
Erro 1	4	972.500000	243.125000		
Adição de CAC	1	11055.625000	11055.625000	39.396	0.0033
Erro 1	4	1122.500000	280.625000		
Cultivar	1	3705.625000	3705.625000	5.316	0.0320
Cultivar x Sist.Irrigação	1	2030.625000	2030.625000	2.913	0.1034
Adição CAC x Sist.Irrigação	1	4730.625000	4730.625000	6.786	0.0169
Cultivar x Adição CAC	1	0.625000	0.625000	0.001	0.9764
Cultivar x Ad.CAC x Sist.Irrig.	1	855.625000	855.625000	1.227	0.2811
Erro 1	20	13942.500000	697.125000		
Total corrigido	39	38909.375000			
CV 1 (%) = 23.76		CV 2 (%) = 25.53		CV 3 (%) = 40.23	
Média geral: 65.6250000		Número de observações: 40			

**TABELA 58A:** Análise de variância do experimento 2.1, avaliação do sistema de irrigação e da adição de casca de arroz carbonizada (CAC) ao substrato, característica taxa de sobrevivência, desdobramento de adição de CAC dentro de cada sistema de irrigação. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Adição de CAC / Aspersão	1	661.250000	661.250000	0.949	0.3417
Adição de CAC / Flutuação	1	15125.000000	15125.000000	21.696	0.0002
Resíduo	20	13942.500000	697.125000		

**TABELA 59A:** Análise de variância do experimento 2.1, avaliação do sistema de irrigação e da adição de casca de arroz carbonizada (CAC) ao substrato, característica taxa de sobrevivência, desdobramento de sistema de irrigação dentro de cada nível de adição de CAC. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Sist. Irrigação / Com CAC	1	2761.250000	2761.250000	3.961	0.0604
Sist. Irrigação / Sem CAC	1	2000.000000	2000.000000	2.869	0.1058
Resíduo	20	13942.500000	697.125000		

TABELA 60A: Análise de variância do experimento 2.1, avaliação do sistema de irrigação e da adição de casca de arroz carbonizada (CAC) ao substrato, característica número de folhas. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	4	0.483500	0.120875	3.491	0.1267
Sistema de Irrigação	1	0.870250	0.870250	25.134	0.0074
Erro 1	4	0.138500	0.034625		
Adição de CAC	1	0.020250	0.020250	0.564	0.4943
Erro 2	4	0.143500	0.035875		
Cultivar	1	3.080250	3.080250	25.347	0.0001
Cultivar x Sist.Irrigação	1	0.240250	0.240250	1.977	0.1751
Adição de CAC x Sist.Irrigação	1	0.110250	0.110250	0.907	0.3522
Cultivar x Adição de CAC	1	0.020250	0.020250	0.167	0.6875
Cultivar x Ad.CAC x Sist.Irrig.	1	0.072250	0.072250	0.595	0.4497
Erro 3	20	2.430500	0.121525		
Total corrigido	39	7.609750			
CV 1 (%) = 8.87		CV 2 (%) = 9.03			CV 3 (%) = 16.62
Média geral: 2.0975000		Número de observações: 40			

TABELA 61A: Análise de variância do experimento 2.1, avaliação do sistema de irrigação e da adição de casca de arroz carbonizada (CAC) ao substrato, característica altura máxima de folhas. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	4	49.888500	12.472125	0.408	0.7968
Sistema de Irrigação	1	218.556250	218.556250	7.148	0.0556
Erro 1	4	122.302500	30.575625		
Adição de CAC	1	211.140250	211.140250	3.894	0.1197
Erro 2	4	216.873500	54.218375		
Cultivar	1	485.112250	485.112250	10.740	0.0038
Cultivar x Sist.Irrigação	1	0.000250	0.000250	0.000	0.9981
Adição de CAC x Sist.Irrigação	1	3.660250	3.660250	0.081	0.7788
Cultivar x Adição de CAC	1	4.422250	4.422250	0.098	0.7576
Cultivar x Ad.CAC x Sist.Irrig.	1	23.256250	23.256250	0.515	0.4813
Erro 2	20	903.387500	45.169375		
Total corrigido	39	2238.599750			
CV 1 (%) = 21.81		CV 2 (%) = 29.05			CV 3 (%) = 26.51
Média geral: 25.3475000		Número de observações: 40			

**TABELA 62A: Análise de variância do experimento 2.1, avaliação do sistema de irrigação e da adição de casca de arroz carbonizada (CAC) ao substrato, característica altura média de folhas. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	4	37.853500	9.463375	0.412	0.7941
Sistema de Irrigação	1	64.770250	64.770250	2.822	0.1683
Erro 1	4	91.803500	22.950875		
Adição de CAC	1	129.240250	129.240250	9.583	0.0364
Erro 2	4	53.943500	13.485875		
Cultivar	1	188.790250	188.790250	12.228	0.0023
Cultivar x Sist.Irrigação	1	22.952250	22.952250	1.487	0.2369
Adição de CAC x Sist.Irrigação	1	1.406250	1.406250	0.091	0.7659
Cultivar x Adição de CAC	1	0.812250	0.812250	0.053	0.8209
Cultivar x Ad.CAC x Sist.Irrig.	1	0.650250	0.650250	0.042	0.8395
Erro 3	20	308.787500	15.439375		
<b>Total corrigido</b>	<b>39</b>	<b>901.009750</b>			
CV 1 (%) = 26.04		CV 2 (%) = 19.96			CV 3 (%) = 21.36
Média geral: 18.3975000		Número de observações: 40			

**TABELA 63A: Análise de variância do experimento 2.2, avaliação do corte basal do calo, característica taxa de sobrevivência. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	5	873.833333	174.766667	1.161	0.3726
Cultivar	1	4.166667	4.166667	0.028	0.8701
Corte basal	1	4.166667	4.166667	0.028	0.8701
Cultivar x Corte basal	1	7350.000000	7350.000000	48.844	0.0000
Erro	15	2257.166667	150.477778		
<b>Total corrigido</b>	<b>23</b>	<b>10489.333333</b>			
CV (%) = 19.12		Média geral: 64.166667			Número de observações: 24

**TABELA 64A: Análise de variância do experimento 2.2, avaliação do corte basal do calo, característica número de folhas. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	5	7.538750	1.507750	1.720	0.1906
Cultivar	1	0.050417	0.050417	0.058	0.8137
Corte basal	1	0.050417	0.050417	0.058	0.8137
Cultivar x Corte basal	1	6.720417	6.720417	7.668	0.0143
Erro	15	13.146250	0.876417		
Total corrigido	23	27.506250			
CV (%) = 30.08		Média geral: 3.1125000			Número de observações: 24

**TABELA 65A: Análise de variância do experimento 2.2, avaliação do corte basal do calo, característica altura máxima de folhas. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	5	185.575000	37.115000	0.657	0.6612
Cultivar	1	9.881667	9.881667	0.175	0.6817
Corte basal	1	9.881667	9.881667	0.175	0.6817
Cultivar x Corte basal	1	3042.001667	3042.001667	53.847	0.0000
Erro	15	847.405000	56.493667		
Total corrigido	23	4094.745000			
CV (%) = 13.68		Média geral: 54.9250000			Número de observações: 24

**TABELA 66A: Análise de variância do experimento 2.2, avaliação do corte basal do calo, característica altura média de folhas. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	5	304.328333	60.865667	3.182	0.0372
Cultivar	1	4.860000	4.860000	0.254	0.6215
Corte basal	1	4.860000	4.860000	0.254	0.6215
Cultivar x Corte basal	1	1820.041667	1820.041667	95.148	0.0000
Erro	15	286.928333	19.128556		
Total corrigido	23	2421.018333			
CV (%) = 10.47		Média geral: 41.7583333			Número de observações: 24

**TABELA 67A:** Análise de variância do experimento 3.1, avaliação do desenvolvimento inicial, característica taxa de sobrevivência. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	4	613.600000	153.400000	1.000	0.4609
Geração	2	2050.133333	1025.066667	6.682	0.0197
Erro	8	1227.200000	153.400000		
Total corrigido	14	3890.933333			
CV (%) = 13.50		Média geral: 91.7333333			Número de observações: 15

**TABELA 68A:** Análise de variância do experimento 3.1, avaliação do desenvolvimento inicial, característica número de folhas. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	4	1.733333	0.433333	1.130	0.4073
Geração	2	84.933333	42.466667	110.783	0.0000
Erro	8	3.066667	0.383333		
Total corrigido	14	89.733333			
CV (%) = 11.33		Média geral: 5.4666667			Número de observações: 15

**TABELA 69A:** Análise de variância do experimento 3.1, avaliação do desenvolvimento inicial, característica altura das folhas. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	4	0.266667	0.066667	0.087	0.9840
Geração	2	182.533333	91.266667	119.043	0.0000
Erro	8	6.133333	0.766667		
Total corrigido	14	188.933333			
CV (%) = 7.34		Média geral: 11.9333333			Número de observações: 15

**TABELA 70A: Análise de variância do experimento 3.2, avaliação da produção em campo, característica Classe 18. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2004.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Repetição	5	1691766.666667	338353.333333	1.000	0.5000
Cultivar	1	6753000.333333	6753000.333333	19.958	0.0066
Erro	5	1691766.666667	338353.333333		
<b>Total corrigido</b>	<b>11</b>	<b>10136533.666667</b>			
<b>CV (%) = 77.54</b>		<b>Média geral: 750.1666667</b>		<b>Número de observações: 12</b>	

**TABELA 71A: Análise de variância do experimento 3.2, avaliação da produção em campo, característica Classe 12. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2004.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Repetição	5	1753070.666667	350614.133333	0.202	0.9479
Cultivar	1	60121633.333333	60121633.333333	34.680	0.0020
Erro	5	8668077.666667	1733615.533333		
<b>Total corrigido</b>	<b>11</b>	<b>70542781.666667</b>			
<b>CV (%) = 12.34</b>		<b>Média geral: 10666.8333333</b>		<b>Número de observações: 12</b>	

**TABELA 72A: Análise de variância do experimento 3.2, avaliação da produção em campo, característica Classe 9. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2004.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Repetição	5	8055812.666667	1611162.533333	3.966	0.0784
Cultivar	1	38772075.000000	38772075.000000	95.430	0.0002
Erro	5	2031440.000000	406288.000000		
<b>Total corrigido</b>	<b>11</b>	<b>48859327.666667</b>			
<b>CV (%) = 11.32</b>		<b>Média geral: 5631.1666667</b>		<b>Número de observações: 12</b>	



**TABELA 73A: Análise de variância do experimento 3.2, avaliação da produção em campo, característica Classe 6. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2004.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Repetição	5	167533.000000	33506.600000	0.060	0.9960
Cultivar	1	169932.000000	169932.000000	0.307	0.6035
Erro	5	2769692.000000	553938.400000		
Total corrigido	11	3107157.000000			
CV (%) = 18.28		Média geral: 4071.500000			Número de observações: 12

**TABELA 74A: Análise de variância do experimento 3.2, avaliação da produção em campo, característica Refugo. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2004.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Repetição	5	552993.666667	110598.733333	0.205	0.9464
Cultivar	1	492075.000000	492075.000000	0.914	0.3830
Erro	5	2692642.000000	538528.400000		
Total corrigido	11	3737710.666667			
CV (%) = 76.10		Média geral: 964.333333			Número de observações: 12

**TABELA 75A: Análise de variância do experimento 3.2, avaliação da produção em campo, característica Produtividade Classes 18+12+9. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2004.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Repetição	5	23821708.444444	4764341.688889	1.331	0.3266
Cultivar	1	392732095.444444	196366047.722222	54.861	0.0000
Erro	5	35793321.888889	3579332.188889		
Total corrigido	17	452347125.777778			
CV (%) = 12.42		Média geral: 15238.111111			Número de observações: 12

**TABELA 76A: Análise de variância do experimento 3.2, avaliação da produção em campo, característica Produtividade Comercial. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2004.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Repetição	5	5160450.416667	1032090.083333	0.377	0.8461
Cultivar	1	207159990.083333	207159990.083333	75.614	0.0003
Erro	5	13698434.416667	2739686.883333		
Total corrigido	11	226018874.916667			
CV (%) = 8.13		Média geral: 20368.9166667			Número de observações: 12

**TABELA 77A: Análise de variância do experimento 3.2, avaliação da produção em campo, característica Produtividade Total. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2004.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Repetição	5	7733897.666667	1546779.533333	0.289	0.9006
Cultivar	1	227801388.000000	227801388.000000	42.492	0.0013
Erro	5	26805261.000000	5361052.200000		
Total corrigido	11	262340546.666667			
CV (%) = 10.85		Média geral: 21333.3333333			Número de observações: 12

**TABELA 78A: Análise de variância do experimento 3.2, avaliação da produção em campo, característica Peso médio de raízes. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2004.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Repetição	5	389.666667	77.933333	2.552	0.1634
Cultivar	1	1408.333333	1408.333333	46.124	0.0011
Erro	5	152.666667	30.533333		
Total corrigido	11	1950.666667			
CV (%) = 7.15		Média geral: 77.3333333			Número de observações: 12

**TABELA 79A: Análise de variância do experimento 3.2, avaliação da produção em campo, característica Porcentagem de Produção de raízes das classes 18, 12 e 9. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2004.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Repetição	5	64.866667	12.973333	1.754	0.2763
Cultivar	1	448.963333	448.963333	60.693	0.0006
Erro	5	36.986667	7.397333		
Total corrigido	11	550.816667			
CV (%) = 3.45		Média geral: 78.8166667			Número de observações: 12

**TABELA 80A: Análise de variância do experimento 3.2, avaliação da produção em campo, característica Porcentagem de Produção de raízes comerciais. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2004.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Repetição	5	14.696667	2.939333	0.309	0.8885
Cultivar	1	0.653333	0.653333	0.069	0.8038
Erro	5	47.596667	9.519333		
Total corrigido	11	62.946667			
CV (%) = 3.22		Média geral: 95.7333333			Número de observações: 12

**TABELA 81A: Análise de variância do experimento 3.2, avaliação da produção em campo, característica Porcentagem de raízes refugo. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2004.**

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Repetição	5	14.696667	2.939333	0.309	0.8885
Cultivar	1	0.653333	0.653333	0.069	0.8038
Erro	5	47.596667	9.519333		
Total corrigido	11	62.946667			
CV (%) = 72.31		Média geral: 4.2666667			Número de observações: 12

## ANEXO B

TABELA 1B: Resultado da análise de similaridade do isolado C17, vírus isolado de uma planta da cv. Amarela Comum. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2003.

Sequences producing significant alignments:	(bits)	Value
<a href="#">gi 12744875 gb AF328754.1 AF328754</a> Bean common mosaic necro...	<u>94</u>	2e-16
<a href="#">gi 58682 emb Z17203.1 BCMVNL3CP</a> Bean common mosaic virus NL.	<u>94</u>	2e-16
<a href="#">gi 12744887 gb AF328760.1 AF328760</a> Bean common mosaic necro...	<u>86</u>	5e-14
<a href="#">gi 12744883 gb AF328758.1 AF328758</a> Bean common mosaic necro...	<u>86</u>	5e-14
<a href="#">gi 433286 gb S66274.1 S66274S1</a> polymerase, coat protein [be...	<u>86</u>	5e-14
<a href="#">gi 1045623 gb U37076.1 BCU37076</a> Bean common mosaic necrosis...	<u>86</u>	5e-14
<a href="#">gi 12744871 gb AF328752.1 AF328752</a> Bean common mosaic necro...	<u>78</u>	1e-11
<a href="#">gi 625062 gb U19287.1 BCU19287</a> Bean common mosaic virus pol...	<u>78</u>	1e-11
<a href="#">gi 687756 gb U20818.1 BCU20818</a> Bean common mosaic virus pol...	<u>78</u>	1e-11
<a href="#">gi 349340 gb L22907.1 WMVCOATA</a> Watermelon mosaic virus 2 co...	<u>72</u>	8e-10
<a href="#">gi 222776 dbj D13913.1 WMVCP</a> Watermelon mosaic virus 2, 49k...	<u>72</u>	8e-10
<a href="#">gi 222774 dbj D00535.1 WMVCOAT</a> Watermelon mosaic virus 2 ge...	<u>72</u>	8e-10
<a href="#">gi 2960537 dbj AB011404.1 AB011404</a> Calanthe mild mosaic pot...	<u>72</u>	8e-10
<a href="#">gi 1906764 dbj AB001994.1 AB001994</a> Watermelon mosaic virus ...	<u>72</u>	8e-10
<a href="#">gi 14290101 gb AF379854.1 AF379854</a> Cloning vector pVLH/hsp,...	<u>70</u>	3e-09
<a href="#">gi 14009668 gb AF338824.1 AF338824</a> Cloning vector pVLH/int(...	<u>70</u>	3e-09
<a href="#">gi 3025714 gb AF041426.1 AF041426</a> Cloning vector pVLH-1, co...	<u>70</u>	3e-09
<a href="#">gi 5805100 emb AJ010707.1 SPO010707</a> Sweet potato feathery m...	<u>70</u>	3e-09
<a href="#">gi 5805079 emb AJ010702.1 SPO010702</a> Sweet potato feathery m...	<u>70</u>	3e-09
<a href="#">gi 5805073 emb AJ010699.1 SPO010699</a> Sweet potato feathery m...	<u>70</u>	3e-09
<a href="#">gi 255367 gb S43450.1 S43450</a> capsid protein [sweetpotato fe...	<u>70</u>	3e-09
<a href="#">gi 2370570 emb Z98942.1 SPFMVCOAT</a> Sweet potato feathery mot...	<u>70</u>	3e-09
<a href="#">gi 2370567 emb AJ001440.1 SPAJ1440</a> Sweet potato feathery mo...	<u>70</u>	3e-09

## ANEXO C

TABELA 1C: Resultado de testes Elisa indireto para AP-1. Brasília/DF, Embrapa Hortaliças, 2001.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A amostras												
B	A 92567 II	Ecu 1229	Ecu 1229II	92739 M	92739-5	92739-19	6513-2	6513-16	90134-9	90134-25		
C	A 92657 II	A 92657	TAMPAO	92739 M	92739-7	92739-20	6513-3	6513-19	90134-12	NEG. Ind.		
D	Ecu 1182II	Ecu 1182	90134 M	6513 M	POS	92739-21	6513-6	6513-21	90134-16	NEG. Ind.		
E	A 92583 II	A 92517	90134 M	6513 M	92739-10	92739-22	6513-11	90134-2	90134-22	NEG. Sem.		
F	A 92517 II	A 92655	90134 M	6513 M	92739-13	92739-24	6513-12	90134-4	90134-23	NEG. Sem.		
G	A 92655 II	A 92583	92739 M	TAMPAO	92739-17	6513-1	6513-15	90134-8	90134-24	POS. DIL		
H												

A resultados												
B	0,111	0,119	0,119	0,137	0,110	0,104	0,088	0,086	0,086	0,092		
C	0,085	0,143	0,067	0,082	0,083	0,093	0,109	0,103	0,088	0,084		
D	0,093	0,193	0,088	0,087	0,341	0,087	0,099	0,111	0,088	0,084		
E	0,089	0,160	0,100	0,098	0,087	0,090	0,099	0,132	0,091	0,092		
F	0,089	0,110	0,087	0,100	0,095	0,088	0,092	0,123	0,088	0,086		
G	0,084	0,126	0,094	0,075	0,085	0,124	0,083	0,085	0,082	0,288		
H												

controle negativo      media      dp      corte      controle positivo      **0,315**  
    0,087      0,0037859      0,0978578      Resultado positivo      **0,124**

92739 M: Matrizes da cv. Amarela de Senador Amaral (ASA); 92739-5 a 24: Plantas micropropagadas da ASA  
 90134 M: Matrizes da cv. Amarela Comum (AC); 90134-2 a 25: Plantas micropropagadas da AC