



AMANDA LIMA VILELA

**INDUÇÃO E COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA DE CALOS DE
EXPLANTES OBTIDOS DE FOLHA, CAULE E RAIZ DE
BATATA-DOCE**

**LAVRAS – MG
2021**

AMANDA LIMA VILELA

**INDUÇÃO E COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA DE CALOS DE EXPLANTES OBTIDOS
DE FOLHA, CAULE E RAIZ DE BATATA-DOCE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Moacir Pasqual
Orientador

Profa. Dra. Joyce Dória Soares
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Vilela, Amanda Lima.

Indução e composição bioquímica de calos de explantes
obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce / Amanda Lima Vilela.
- 2021.

102 p. : il.

Orientador(a): Moacir Pasqual.

Coorientador(a): Joyce Dória Soares.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. *Ipomoea batatas*. 2. Reguladores de crescimento. 3.
Metabólitos secundários. I. Pasqual, Moacir. II. Soares, Joyce
Dória. III. Título.

AMANDA LIMA VILELA

**INDUÇÃO E COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA DE CALOS DE EXPLANTES OBTIDOS
DE FOLHA, CAULE E RAIZ DE BATATA-DOCE**

**INDUCTION AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF CALLUS OBTAINED
FROM SWEET POTATO LEAF, STEM AND ROOT EXPLANTS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 16 de abril de 2021.

Dra. Claudineia Ferreira Nunes UFMG

Dra. Heloísa Oliveira dos Santos UFLA

Prof. Dr. Moacir Pasqual
Orientador

Profa. Dra. Joyce Dória Soares
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2021**

A Deus.

Aos meus pais, Ana e Edmilson.

Ao meu irmão Breno.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, simples e majoritariamente pelo dom da vida, por ser minha força e luz.

À minha mãe, Ana, e ao meu pai, Edmilson, pelo amor incondicional, confiança, por todo o apoio, autores da minha motivação e dedicação.

Ao meu irmão Breno, por sempre acreditar em mim.

À minha cunhada Chris, pela amizade, carinho e suporte.

Ao Alexandre, por ser alavanca, apoio e confiança em todos os momentos.

À família Lima, pela inspiração.

À família Vilela, pelo encorajamento.

Ao meu orientador, Moacir Pasqual, pelo acolhimento, compreensão, apoio e paciência.

À minha coorientadora, Joyce, pela presteza.

Aos técnicos Filipe e Vantuil, pelo auxílio e ensinamentos.

Aos colegas de trabalho, pelo companheirismo.

À técnica e tia Annete, pela prontidão e gentileza em ajudar.

À Prof. Elisângela, pela disponibilidade e atenção.

À Dra. Dayliane, pela dedicação e solicitude.

À Marli, pela atenção e carinho.

A todos os amigos que sempre acreditaram e torceram por mim.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Agricultura, pela oportunidade e condições oferecidas durante o curso.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Código de Financiamento 001, pela concessão da bolsa de Mestrado.

Muito obrigada!

“Entregue o teu caminho ao Senhor, confia Nele, e o mais Ele fará.”
(Salmos 17:5)

RESUMO

O objetivo foi estudar o comportamento de explantes foliares, caulinares e radiculares de batata-doce de polpa branca, em meios de cultura com auxina e citocinina e analisar bioquimicamente plantas *ex vitro* e calos induzidos em meios de cultura com concentrações crescentes de sacarose, provenientes de explantes de batata-doce de polpa roxa e de polpa laranja. Para isso, foram realizados dois experimentos distintos, onde o primeiro deles estudou o comportamento dos explantes de folha, caule e raiz da batata-doce Brazlândia Branca, em meio de cultura contendo 1 mg L⁻¹ de ANA (ácido naftalenoacético) e 10 mg L⁻¹ de BAP (6-Benzylaminopurine), outro suplementado com 3 mg L⁻¹ de 2,4D (ácido diclorofenoxiacético), o terceiro com 2 mg L⁻¹ de ANA mais 2 mg L⁻¹ de KIN (cinetina) e o tratamento controle sem nenhum tipo de regulador de crescimento. As avaliações foram feitas com 45 e 90 dias. Para todos os explantes inoculados em meio de cultura com regulador de crescimento houve formação de calos, os explantes de folha e caule apresentaram maior massa que os explantes da raiz, e o meio de cultura que proporcionou melhor desenvolvimento dos calos variou muito, dependendo do explante inoculado. O segundo experimento estudou a composição bioquímica das amostras de calos de explantes obtidos da folha, caule e raiz de batata-doce de polpa roxa, genótipo 2018-72-1407, e laranja, cultivar Beauregard, em meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹, 60 mg L⁻¹ e 120 mg L⁻¹ de sacarose. Os resultados mostraram que níveis maiores de sacarose no meio de cultura podem potencializar a produção de compostos bioativos em qualquer um dos explantes inoculados.

Palavras-chave: *Ipomoea batatas*. Reguladores de crescimento. Metabólitos secundários.

ABSTRACT

The objective was to study the behavior of white-fleshed sweet potato leaf, stem and root explants in culture media with auxin and cytokinin and to biochemically analyze ex vitro plants and callus induced in culture media with increasing concentrations of sucrose, from explants of sweet potato with purple flesh and orange flesh. For this, two different experiments were carried out, where the first one studied the behavior of the explants of leaf, stem and root of the sweet potato Brazlândia Branca in culture medium containing 1 mg L⁻¹ of ANA (naphthalenoacetic acid) and 10 mg L⁻¹ of BAP (6-Benzylaminopurine), another supplemented with 3 mg L⁻¹ of 2,4D (dichlorophenoxyacetic acid), the third with 2 mg L⁻¹ of ANA plus 2 mg L⁻¹ of KIN (kinetin) and the control treatment without any kind of growth regulator. Assessments were made at 45 and 90 days. For all explants inoculated in culture medium with growth regulator, calluses were formed, leaf and stem explants showed greater mass than root explants and the culture medium that provided better callus development varied greatly depending on the inoculated explant. The second experiment studied the biochemical composition of the callus samples from explants obtained from the leaf, stem and root of purple-fleshed sweet potato, genotype 2018-72-1407, and orange, Beauregard cultivar, in culture medium supplemented with 30 mg L⁻¹, 60 mg L⁻¹ and 120 mg L⁻¹ of sucrose. The results showed that higher levels of sucrose in the culture medium can enhance the production of bioactive compounds in any of the inoculated explants.

Keywords: *Ipomoea batatas*. Growth regulators. Secondary metabolites.

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE

Figura 1 - Derivações dos três principais grupos de metabólitos secundários.....28

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1

Figura 1 - Projeção bidimensional e pontuação das características de cor em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas ou no escuro por 45 dias. 52

Figura 2 - Análise hierárquica de agrupamento (HCA) das características de cor em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas ou no escuro por 45 dias. 53

Figura 3 - Imagens obtidas pelo equipamento GroundEye para análise de imagem das amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas por 45 dias...54

Figura 4 - Imagens obtidas pelo equipamento GroundEye para análise de imagem das amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, no escuro por 45 dias. 55

Figura 5 - Imagens obtidas pelo celular das amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP e 2,4D, sob fotoperíodo de 16 horas e no escuro por 45 dias.....55

Figura 6 - Projeção bidimensional e pontuação das características de cor em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas ou no escuro por 90 dias. 56

Figura 7 -	Análise hierárquica de agrupamento (HCA) das características de cor em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas ou no escuro por 45 dias.	57
Figura 8 -	Imagens obtidas pelo equipamento GroundEye para análise de imagem das amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas por 90 dias.	58
Figura 9 -	Imagens obtidas pelo equipamento GroundEye para análise de imagem das amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas por 90 dias.	59
Figura 10 -	Projeção bidimensional e pontuação das características geométricas em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas ou no escuro por 45 e 90 dias.	61
Figura 11 -	Análise hierárquica de agrupamento (HCA) das características geométricas em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas ou no escuro por 45 e 90 dias.....	62

ARTIGO 2

Figura 1 -	Projeção bidimensional e pontuação das características bioquímicas dos compostos fenólicos totais, flavonoides totais, atividade antioxidante método fosfomolibdênio e sólidos solúveis (°Brix) em amostras de folha, caule e raiz de plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.....	89
Figura 2 -	Análise hierárquica de agrupamento (HCA) das características bioquímicas de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, atividade antioxidante método fosfomolibdênio e sólidos solúveis (°Brix) em amostras de folha, caule e raiz de plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.....	90

Figura 3 -	Projeção bidimensional e pontuação das características de cor em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.	91
Figura 4 -	Análise hierárquica de agrupamento (HCA) das características de cor em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.	91
Figura 5 -	Imagens obtidas pelo equipamento GroundEye para análise de imagem das amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard, desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 mg L ⁻¹ de sacarose.	92
Figura 6 -	Imagens obtidas pelo equipamento GroundEye para análise de imagem das amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard, desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 60 mg L ⁻¹ de sacarose.	93
Figura 7 -	Imagens obtidas pelo equipamento GroundEye para análise de imagem das amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard, desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 120 mg L ⁻¹ de sacarose.	93
Figura 8 -	Projeção bidimensional e pontuação das características geométricas em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.	95
Figura 9 -	Análise hierárquica de agrupamento (HCA) das características geométricas em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.	96

LISTA DE TABELAS

PRIMEIRA PARTE

- Tabela 1 - Valor nutricional e características físico-químicas de cultivares de batata-doce e mandioca da América do Norte e Caribe.24
- Tabela 2 - Compostos benéficos à saúde presentes na batata-doce.25

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1

- Tabela 1 - Médias da massa (em gramas) de calos formados em explantes obtidos de folha, caule e raiz, de plantas de Brazlândia Branca desenvolvidas in vitro, inoculados em meios de cultura suplementados com 2,4D, ANA + BAP e ANA + KIN. .47
- Tabela 2 - Médias de massa de calos, de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce, cultivar Brazlândia Branca, desenvolvidos em meios de cultura suplementados com 2,4D, ANA + BAP e ANA + KIN em ambiente claro (sob fotoperíodo de 16 horas) e escuro, aos 90 dias de desenvolvimento.49
- Tabela 3 - Porcentagem média de ganho de massa de calos de explantes de batata-doce, cultivar Brazlândia Branca, entre 45 e 90 dias de desenvolvimento em ambiente com fotoperíodo de 16 horas e ambiente totalmente escuro.50
- Tabela 4 - Porcentagem média de ganho de massa de calos de explantes de folha, caule e raiz de batata-doce, cultivar Brazlândia Branca, entre 45 e 90 dias de desenvolvimento.50
- Tabela 5 - Valores médios de área (cm²), circularidade, esfericidade, diâmetro máximo (cm), diâmetro mínimo (cm) e perímetro (cm) das amostras de de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce cultivar Brazlândia Branca, desenvolvidos em ambiente com fotoperíodo de 16 horas e no escuro por 45 dias e 90 dias.60

ARTIGO 2

- Tabela 1 - Médias da massa de calos formados em explantes obtidos das folhas, raízes e caule de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beuregard.75
- Tabela 2 - Médias da massa de calos formados em explantes de partes das plantas do genótipo 2018-72-1407 e da cultivar Beuregard nos meios de cultivo suplementados com 30 mg L⁻¹ de sacarose, 60 mg L⁻¹ de sacarose e 120 mg L⁻¹ de sacarose. Desdobramento da interação meio de cultivo x variedade de batata-doce.76

Tabela 3 -	Quantidade média de fenólicos totais em gramas de ácido gálico/100 gramas de amostra de folha, caule e raiz de plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 mg L ⁻¹	78
Tabela 4 -	Produção de fenólicos totais em gramas de ácido gálico/100g de amostra de calos formados em explantes do caule desenvolvidos em meio de cultivo suplementado com 30 mg L ⁻¹ , 60 mg L ⁻¹ e 120 mg L ⁻¹ de sacarose e de caule das plantas conduzidas no campo do genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.	78
Tabela 5 -	Quantidade média de flavonoides totais em gramas de ácido gálico/100 gramas de amostra de folha, caule e raiz de plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 mg L ⁻¹ e 60 mg L ⁻¹ de sacarose, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.	80
Tabela 6 -	Quantidade média de flavonoides totais em gramas de ácido gálico/100 gramas de amostra de caule de plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de caule desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 mg L ⁻¹ , 60 mg L ⁻¹ e 120 mg L ⁻¹ de sacarose, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.	81
Tabela 7 -	Médias de atividade antioxidante em mg de ácido ascórbico/100 g de amostra dos calos formados em explantes obtidos de diferentes partes das plantas em diferentes meios de cultivo (30 mg L ⁻¹ e 60 mg L ⁻¹) e de folha, caule e raiz das plantas de batata-doce conduzidas no campo. Desdobramento da interação parte da planta x condições de cultivo.	82
Tabela 8 -	Médias de atividade antioxidante em mg de ácido ascórbico/100 g de amostra de plantas e calos de explantes de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard em diferentes condições de cultivo (plantas conduzidas no campo, calos de explantes desenvolvidos em meio de cultivo com 30 mg L ⁻¹ e 60 mg L ⁻¹ de sacarose). Desdobramento da interação condições de cultivo x variedade da batata-doce.	83
Tabela 9 -	Atividade antioxidante em mg de ácido ascórbico/100 g de amostra de diferentes partes da planta (folha caule e raiz) de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard. Desdobramento da interação parte da planta x variedade da batata-doce.	83

Tabela 10 -	Médias de atividade antioxidante em mg de ácido ascórbico/100 g de amostra de calos formados em explantes do caule desenvolvidos em meio de cultivo suplementado com 30 mg L ⁻¹ , 60 mg L ⁻¹ e 120 mg L ⁻¹ de sacarose e de caule das plantas conduzidas no campo do genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard. Desdobramento da interação condições de cultivo x variedade da batata-doce.	84
Tabela 11 -	Médias em mg de antocianinas totais/100g de amostra de folha, caule e raiz de plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 e 60 mg L ⁻¹ de sacarose de batata-doce roxa, genótipo 2018-72-1407. Desdobramento da interação parte da planta x condição de cultivo.	85
Tabela 12 -	Porcentagem média de sólidos solúveis (°Brix) de amostra de folha, caule e raiz de plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 mg L ⁻¹ e 60 mg L ⁻¹ de sacarose, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.	86
Tabela 13 -	Porcentagem média de °Brix das amostras de caules plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos do caule desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30, 60 e 120 mg L ⁻¹ de sacarose.....	87
Tabela 14 -	Valores de pH de amostra dos calos formados em explantes obtidos de diferentes partes das plantas em diferentes meios de cultivo (30 mg L ⁻¹ e 60 mg L ⁻¹) e de folha, caule e raiz das plantas de batata-doce conduzidas no campo. Desdobramento da interação parte da planta x condições de cultivo.	88
Tabela 15 -	Médias dos valores de pH das amostras de caule de plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de caule desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30, 60 e 120 mg L ⁻¹ de sacarose.....	88
Tabela 16 -	Valores médios de área (cm ²), circularidade, esfericidade, diâmetro máximo (cm), diâmetro mínimo (cm) e perímetro (cm) das amostras de de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.	94

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	REFERENCIAL TEÓRICO	22
2.1	A cultura da batata-doce.....	22
2.2	Metabólitos secundários	27
2.3	Terpenos	28
2.4	Compostos fenólicos.....	29
2.5	Alcaloides.....	29
2.6	Cultura de tecidos vegetais <i>in vitro</i>	30
2.7	Cultura de calos	31
2.8	Micropropagação de batata-doce	32
2.9	Produção de metabólitos secundários <i>in vitro</i>	33
	REFERÊNCIAS.....	35

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS*

ARTIGO 1 INDUÇÃO DE CALOS EM EXPLANTES DE FOLHA, CAULE E RAIZ DE BATATA-DOCE

1	INTRODUÇÃO.....	42
2	MATERIAL E MÉTODOS	43
2.1	Material vegetal	43
2.2	Obtenção dos explantes	43
2.3	Indução dos calos	44
2.4	Análises dos calos.....	44
2.5	Análise de imagem	45
2.5.1	Coloração.....	45
2.5.2	Geometria	45
2.6	Delineamento experimental e análise estatística	46
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
3.1	Massa dos calos aos 45 dias.....	46
3.2	Massa dos calos aos 90 dias.....	48
3.3	Porcentagem do ganho de massa de calos entre 45 dias e 90 dias de desenvolvimento	49
3.4	Umidade.....	51

3.5	Análise de imagem	51
3.5.1	Coloração	51
3.5.2	Geometria	59
4	CONCLUSÃO	62
	REFERÊNCIAS.....	64
	ARTIGO 2 COMPOSTOS BIOATIVOS EM CALOS DE BATATA-DOCE DE POLPA ROXA E LARANJA	66
1	INTRODUÇÃO.....	67
2	MATERIAL E MÉTODOS	68
2.1	Material vegetal, estabelecimento e multiplicação	68
2.2	Obtenção dos explantes e meio de cultura para a indução dos calos.....	69
2.3	Análises quantitativas.....	70
2.3.1	Massa de calos	70
2.3.2	Determinação dos fenólicos totais	70
2.3.3	Determinação dos flavonoides totais	70
2.3.4	Determinação da atividade antioxidante	71
2.3.5	Determinação das antocianinas totais.....	72
2.3.6	Determinação de sólidos solúveis (°Brix).....	72
2.3.7	Potencial hidrogeniônico (pH)	73
2.4	Análise de imagem	73
2.4.1	Coloração.....	74
2.4.2	Geometria	74
2.5	Delineamento experimental e análise dos dados	74
3	RESULTADOS	75
3.1	Massa de calos	75
3.2	Fenólicos totais	76
3.3	Flavonoides.....	78
3.4	Atividade antioxidante	81
3.5	Antocianina	84
3.6	Sólidos solúveis (°Brix).....	85
3.7	Potencial hidrogeniônico (pH)	87
3.8	Análise do componente principal (PCA) e análise hierárquica de agrupamento (HCA).....	88
3.9	Análise de imagem	90

3.9.1	Coloração dos calos.....	90
3.9.2	Geometria	93
4	DISCUSSÃO	96
5	CONCLUSÃO	98
	REFERÊNCIAS.....	100

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) é considerada um dos alimentos mais benéficos à saúde, sendo rica em carboidratos, nutrientes, vitaminas, aminoácidos, fibras, além de possuir alta taxa antioxidante (ISLAM, 2014). Segundo Mohanraj e Sivasankar (2014), seus compostos benéficos presentes nas folhas e raízes tuberosas, podem prevenir diversas doenças como diabetes, doenças cardiovasculares e até reduzir a ocorrência de câncer.

Pesquisas realizadas com a batata-doce de polpa roxa mostram as vantagens nutricionais para a saúde humana que as raízes tuberosas carregam. Isto, devido aos altos teores de antocianinas totais, importante fontes de compostos antioxidantes (JI *et al.*, 2015). Além disso, as batatas-doces de polpa roxa são fontes naturais de pigmentos, justamente pela alta concentração de antocianinas e β -caroteno (BOVELL-BENJAMIN, 2007).

A batata-doce de polpa laranja também chama a atenção de consumidores e pesquisadores. Elas possuem altos teores de carotenoides, pigmentos responsáveis por dar a cor alaranjada a estas raízes. A cultivar Beauregard, que possui a polpa de sua raiz tuberosa laranja, é bastante produtiva e foi desenvolvida na Louisiana – EUA, mas adotada no Brasil pela EMBRAPA (EMBRAPA, 2010). A cor laranja da polpa da Beauregard ocorre por conta do alto teor de β -caroteno, que pode chegar a uma concentração dez vezes maior que em outras raízes tuberosas (EMBRAPA, 2014).

Além das raízes tuberosas, as folhas de batata-doce também podem ser consumidas. São excelentes fontes de nutrientes e, segundo Islam (2014), também são uma excelente fonte de polifenóis, como as antocianinas e ácidos fenólicos. Sua concentração de nutrientes é maior até mesmo que de outros vegetais comerciais.

Os compostos secundários têm atraído cada vez mais a atenção, por prevenirem doenças relacionadas ao estresse oxidativo, pois possuem ação antioxidante, ou seja, são capazes de doar elétrons e sustentar a deslocação em torno de sua estrutura aromática (DORNAS *et al.*, 2009). No entanto, a obtenção de metabólitos secundários na natureza é dificultada, pois são escassas e dependem do ciclo de vida das plantas, portanto, técnicas de cultura de tecidos vegetais estão sendo empregadas para aprimorar a produção de metabólitos secundários nas células e tecidos de plantas, e para se obter um melhor aproveitamento desses compostos.

Diversos estudos na área de cultura de tecidos vegetais já foram realizados com a cultura da batata-doce com o objetivo de micropropagar esta espécie e obter mudas saudáveis. Por ser uma planta que se propaga, de preferência, vegetativamente, utilizando mudas obtidas através de suas ramas ou das raízes tuberosas, a disseminação de doenças, como viroses, micoplasmas,

fungos e bactérias, se tornou um problema para os produtores (ALAM *et al.*, 2010). Sendo assim, a obtenção em larga escala de mudas homogêneas e sadias através da cultura de meristemas e micropropagação vem sendo muito utilizada, visto que a batata-doce é facilmente propagada *in vitro*, podendo até ser conduzida em meio nutritivo sem adição de reguladores de crescimento (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Entretanto, existem poucos relatos sobre a produção de metabólitos *in vitro* com a cultura da batata-doce. Mas, seguindo esta linha de pesquisa, Rubinovich *et al.* (2019), avaliaram a produção de compostos bioativos em cultura de células da casca de romã e observaram que é possível potencializar a produção desses compostos utilizando técnicas da cultura de tecidos.

Embora as plantas possam ser usadas para a produção desses metabólitos secundários, culturas de células, e cultura de calos, podem ser uma fonte alternativa atraente para a produção de vários produtos farmacêuticos, agroquímicos, biopesticidas, cores, sabores, fragrâncias e aditivos alimentares (ESPINOSA-LEAL *et al.*, 2018). Por exemplo, culturas de células vegetais são usadas para produzir Paclitaxel, uma droga contra o câncer, de grande sucesso, que foi originalmente isolado da casca de *Taxus brevifolia* (HOWAT *et al.*, 2014). Outro exemplo é o uso de suspensões de células vegetais na produção de resveratrol, um dos principais compostos bioativos da videira, reconhecido por suas propriedades benéficas à saúde, possuindo alto valor comercial (CHU *et al.*, 2017).

Culturas não organizadas, como calos e suspensão de células, estão sendo estudadas com o objetivo de produzir metabólitos secundários e vêm obtendo sucesso nas pesquisas (GYORGY *et al.*, 2005). Através deste modelo, é possível analisar a relação entre a produção do metabólito secundário e o crescimento em termos de número e morfologia celular (KARAM *et al.*, 2003; FURDEN *et al.*, 2005). Porém, fatores como a luz, tipo de frasco e o meio de cultura também podem influenciar a taxa de produção de produtos secundários (REIS *et al.*, 2009).

Dessa forma, avaliar a produção de compostos secundários em cultura de calos de batata-doce *in vitro* é de grande importância, uma vez que, a partir das estimativas de produção desses compostos bioativos, pode-se obter produtos comerciais que poderão ser utilizados na suplementação humana, fármacos, corantes, dentre outros, em pouco tempo e espaço. O objetivo do presente trabalho foi estudar o comportamento de explantes foliares, caulinares e radiculares de batata-doce de polpa branca, em meios de cultura com auxina e citocinina e, analisar bioquimicamente plantas *ex vitro* e calos induzidos em meios de cultura com

concentrações crescentes de sacarose, provenientes de explantes de batata-doce de polpa roxa e de polpa laranja.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura da batata-doce

Apesar do nome, a batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) não pertence ao gênero e família da batata convencional (*Solanum tuberosum*), e sim à família das Convolvulaceae (ROULLIER *et al.*, 2013). Tem origem na América Central e Sul (Peru, Colômbia, Equador e Guatemala) e existem também, referências do seu consumo por indígenas brasileiros no século XVI (MIRANDA, 1989). A China é o país que mais produz batata-doce e, no Brasil, é bem disseminada em todo o território, sendo mais cultivada nas regiões Sul e Nordeste (MARQUES *et al.*, 2018).

Embora esteja entre as hortaliças mais cultivadas no país, a batata-doce tem uma produtividade média abaixo do seu potencial, que poderia ser alcançado quando o manejo é realizado de forma adequada (EMBRAPA, 2019). A produtividade média nacional é de 805.412 toneladas aproximadamente (IBGE, 2019), podendo atingir 25 a 30 t ha⁻¹ em 4 a 5 meses de cultivo (ANDRADE JUNIOR *et al.*, 2012).

Por ser uma cultura muito explorada no Brasil, a batata-doce tem alta importância econômica e social, consequente da facilidade de cultivo, grande adaptação climática e ampla variabilidade genética (EMBRAPA, 2019). Em Santa Catarina é produzido, anualmente, 17.747 toneladas em 988 hectares (IBGE, 2019) e, apesar de o estado não estar entre os maiores produtores do país, apresenta grande importância econômica, movimentando milhões de reais (EMBRAPA, 2019). No Rio Grande do Sul, 11.988 hectares de área plantada são destinados à produção de batata-doce, sendo o estado de maior produção de batata-doce, com 175.041 toneladas (IBGE, 2019).

É um dos alimentos mais consumidos pelo homem, além de ser utilizada na nutrição animal e, mais recentemente, na produção de etanol (CAMARGO *et al.*, 2016). Também é considerada um alimento promissor para atender às necessidades nutricionais entre populações mais carentes nutricionalmente (KEHOE *et al.*, 2015).

No Brasil existem 30 cultivares de batata-doce registradas no Registro Nacional de Cultivares (RNC) do Ministério da Agricultura (CULTIVARWEB, 2020). Mas existe um predomínio das variedades locais não melhoradas sendo cultivadas, resultando assim, em baixa produtividade (SILVA *et al.*, 2015). Além disso, nota-se alta diversidade genética em batata-doce nas variadas regiões produtoras do Brasil, provenientes de segregação assexuada e

sexuada e, se tratando de cultivares registradas, não há informação estatística sobre quais são as mais cultivadas nacionalmente (EMBRAPA, 2019).

Suas variedades se diferem na forma, cor interna e externa, sabor, textura da raiz tuberosa, tamanho, formato, cor de suas folhas e flores (FURLANETO *et al.*, 2012). Por possuírem alta variabilidade genética, o aprimoramento dessa cultura é favorecido, sendo possível trabalhar para obter variedades resistentes e mais produtivas (BEVILAQUA *et al.*, 2019).

As variadas cores das polpas de batata-doce podem ser um indicador de quantidade de β -caroteno, antocianinas, compostos fenólicos, fibra dietética, ácido ascórbico, ácido fenólico e, também, sais minerais (WOOLFE, 2008). Há um interesse crescente por cultivares de polpa colorida, justamente por essa característica nutricional benéfica e concentração de compostos bioativos que causam benefícios à saúde humana (CAMIRE *et al.*, 2009).

O caule, ou rama, de coloração verde ou arroxeadado, pode apresentar crescimento rasteiro, trepador ou ereto chegando até cinco metros de comprimento (SOARES; MELO; MATIAS, 2002). Possui boa adaptação em solos pobres, mas o clima é relevante para o seu cultivo favorável, exigindo temperaturas acima de 24 °C (NEUMANN *et al.*, 2017).

É considerada uma planta de fácil cultivo, adaptação irrestrita, de clima tropical, subtropical, ou até mesmo temperado, podendo tolerar secas. Possui ciclo rápido, de aproximadamente três meses, fácil manutenção e com baixo custo de produção, sendo uma cultura importante para pequenos produtores que a tem como subsistência.

Apesar da rusticidade, a batata-doce utiliza os nutrientes do solo de forma muito eficiente. Possui um sistema radicular extenso e suas raízes são capazes de se modificar em rizosfera, devido a mecanismos morfológicos presentes na planta, sobrevivendo em solos pobres (SILVA *et al.*, 2019). Segundo Fageria e Baligar (1993), as raízes dessa cultura podem se associar a microrganismos que fixam nitrogênio atmosférico, além disso, podem manter o metabolismo da planta inalterado para superar quedas de nutrientes nos tecidos e possuem alta taxa fotossintética. Sua propagação pode ser feita através de ramas ou até mesmo por meio de raízes tuberosas obtidas na colheita, sendo a reprodução vegetativa o principal meio de propagação da espécie.

Há diversas formas de usufruir dos benefícios da raiz tuberosa da batata-doce na alimentação humana. Ela pode ser consumida assada, cozida, como batata frita, flocos, iogurte, sucos, alimentos congelados, dentre outros, além de ser utilizada também na indústria de produção de etanol. Na Índia, Brasil, Tailândia, Indonésia, Filipinas e China, as raízes são utilizadas para obtenção de amido (DUVERNAY *et al.*, 2013) e possuem alto valor nutritivo

pela diversidade sensorial e pelo seu conteúdo de carboidratos (WOOLFE, 2008). Devido a isto e a diversos outros fatores já citados, a batata-doce vem se tornando uma cultura de grande importância mundial (CIP, 2016).

É importante destacar, que apesar dos bons resultados na economia, o cultivo da batata-doce enfrenta desafios fitossanitários. Por ser uma cultura que se propaga vegetativamente, o controle da disseminação de doenças se torna um desafio para os produtores (FURLANETO *et al.*, 2012). As mudas de batata-doce obtidas de ramas ou da própria raiz tuberosa, podem carregar consigo fitopatógenos, notadamente os de etiologia viral, existentes na planta matriz, minimizando a produtividade da espécie (CLARK *et al.*, 2012). Dessa forma, é importante implementar técnicas adequadas para maximizar a produtividade, utilizando manejo adequado e mudas livres de patógenos. Por esta razão, a micropropagação da espécie vem ganhando espaço, sendo a cultura de meristemas uma das formas mais eficazes para a obtenção de mudas sadias.

Caracterizada como uma cultura de segurança alimentar, a batata-doce é considerada um alimento muito rico. A raiz tuberosa é muito presente na alimentação das populações de diversos países e é uma boa fonte de carboidrato, nutrientes, vitaminas, aminoácidos, fibras e possui alta taxa antioxidante (ISLAM, 2014). Os compostos presentes nas raízes tuberosas variam de acordo com a cultivar, sendo uma cultura que possui formas e cores diversas, podendo ter a polpa branca, amarela, laranja e roxa, chamando a atenção por possuírem antioxidantes e corantes naturais, que podem proteger contra estresse oxidativo relacionados à doenças degenerativas (KIM *et al.*, 2015).

Na Tabela 1 são apresentados os valores dos compostos físico-químicos da mandioca, comparados aos compostos da batata-doce.

Tabela 1 - Valor nutricional e características físico-químicas de cultivares de batata-doce e mandioca da América do Norte e Caribe.

Conteúdo nutricional em 100g	Mandioca	Batata-doce
Energia (cal)	160	86
Proteína (g)	1,40	1,60
Carboidratos (g)	38,20	19
Lipídios (g)	28	0,05
Fibras digeríveis (g)	1,80	3,0
Cálcio (mg)	16	30
Ferro (mg)	27	0,61

Fonte: IICA (2015).

O amido é o principal componente das raízes tuberosas e é utilizado de diferentes formas pela indústria alimentícia, química e têxtil (LEONEL; CEREDA, 2002). Além das raízes, as folhas também são comestíveis e muito ricas nutricionalmente. Segundo Islam (2014), as folhas da batata-doce possuem níveis de componentes nutricionais muito mais altos que outros vegetais. São ricas em vitamina B, β -caroteno, ferro, cálcio, zinco e proteínas.

Diversos estudos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de avaliar a utilização da batata-doce na alimentação animal na forma de raízes, ramas ou silagem, pois os teores proteicos se assemelham aos de outros alimentos para animais como o farelo de arroz, milho e sorgo (AZEVEDO *et al.*, 2014).

A Tabela 2 mostra os componentes benéficos à saúde presentes na batata-doce.

Tabela 2 - Compostos benéficos à saúde presentes na batata-doce.

Funções benéficas à saúde	Compostos
Atividade antioxidante	Polifenol, vitaminas, antocianinas
Redução de lesão hepática	Antocianina, β -caroteno
Antimutagenicidade	Polifenol, vitaminas, antocianina
Anticarcinogênese	Gangliosideo
Antihipertensão	Polifenóis, vitaminas, antocianina
Atividade antimicrobiana	Fibra dietética, polissacarídeo
Anti-inflamação	Fibra dietética
Promoção do movimento intestinal	Fibra dietética, jalapín
Efeito antidiabético (WSSP)	Ácido glicoproteico
Efeito anticáries	Fibra dietética
Efeito de proteção ultravioleta	Polifenóis, vitaminas

Fonte: Islam (2006).

A parte aérea da batata-doce, denominada ramas, é composta de caule e folhas e, na maioria das vezes, é descartada, deixando de aproveitar 50% da biomassa produzida pela cultura (FRANKOW-LINDBERG *et al.*, 2003). As ramas são fontes de açúcares, vitaminas, proteína bruta, nutrientes digestíveis e podem ser fornecidas aos animais como alimento na forma *in natura*, secas ou como silagem (PEDROSA *et al.*, 2015). Além de ótima alternativa para a alimentação animal, as folhas também podem ser consumidas por humanos, trazendo muitos benefícios à saúde (ZHANG *et al.*, 2020).

Segundo Islam (2014), as folhas da batata-doce possuem mais componentes nutricionais que diversos outros vegetais. Elas são ricas em Vitamina B, β -caroteno, ferro, cálcio, zinco e proteínas, e esta espécie é mais tolerante a insetos que outros vegetais folhosos. Dependendo da variedade e condições de crescimento, as folhas da batata-doce podem ser, nutricionalmente, comparadas ao espinafre (PROTEGGENTE *et al.*, 2002). Além disso, as folhas da batata-doce

podem ser colhidas diversas vezes em um ano, o que também é vantajoso em comparação com outros vegetais.

A folhas da batata-doce podem conter pelo menos 15 tipos de antocianinas e 6 tipos de compostos polifenólicos, que, biologicamente ativos, possuem ação antioxidante, anti-inflamatória, antibactericida e anticarcinogênico, indicando mais polifenóis totais que qualquer outro vegetal comercial, sendo um alimento funcional (NAGAMINE *et al.*, 2014). Ademais, as folhas da batata-doce podem ser excelentes fontes para a extração de compostos fenólicos para serem usados em produtos alimentícios como suplementos, antioxidantes e conservantes naturais (CASTRO-LÓPEZ *et al.*, 2017).

As características químicas e funcionais dos compostos antioxidantes das raízes de batata-doce podem variar com a origem genética, as condições ambientais e a idade da planta (MOORTHY, 2011). Destacam-se as raízes de casca e polpa roxa pelos benefícios que traz o consumo das raízes tuberosas à saúde humana, já que são fonte de compostos bioativos, principalmente de antocianinas e β -caroteno (BOVELL-BENJAMIN, 2007).

Yoshinaga *et al.* (1999) utilizaram as raízes tuberosas da batata-doce de polpa roxa para a produção de pigmentos naturais, também devido ao seu alto valor de antocianina, que são maiores quando comparadas às raízes tuberosas das batatas-doces de casca e polpa branca ou amarelas e de polpa alaranjada (SUDA *et al.*, 2003).

Muitos estudos são realizados, nos dias de hoje, com o objetivo de avaliar a concentração de compostos bioativos em batata-doce de polpas coloridas para verificar a atividade antioxidante, os benefícios que as antocianinas e carotenoides podem trazer à saúde humana e, também, para a produção de corantes naturais.

A batata-doce de polpa laranja também chama a atenção de consumidores e pesquisadores. Elas possuem altos teores de carotenoides, pigmentos responsáveis por dar a cor alaranjada à estas raízes. A cultivar *Beauregard*, que possui a polpa de sua raiz tuberosa laranja, é bastante produtiva e foi desenvolvida na Louisiana – EUA, mas adotada no Brasil pela EMBRAPA (EMBRAPA, 2010). A cor laranja da polpa da *Beauregard* ocorre por conta do alto teor de β -caroteno, que pode chegar a uma concentração dez vezes maior que em outras raízes tuberosas (EMBRAPA, 2014).

2.2 Metabólitos secundários

Os metabólitos secundários são compostos orgânicos, ou também considerados compostos bioativos, produzidos pelas plantas que possuem importante papel nas defesas vegetais contra herbivoria e outras defesas interespecíficas. Podem ser sucintamente definidos como produtos escassos no meio ambiente, estocados em células e órgãos específicos das plantas (FUMAGALI, 2008).

O metabolismo é basicamente o conjunto de reações químicas que acontecem nas células. Ao contrário dos metabólitos primários, os metabólitos secundários não são essenciais à sobrevivência das espécies, mas permitem que as plantas aumentem a capacidade de sobrevivência em condições adversas ou incomuns (TAIZ; ZEIGER, 2012). Teoricamente, todas as plantas sintetizam produtos de rotas secundárias, mas esse atributo é mais comum entre as espécies mais rústicas, que desenvolveram maior capacidade competitiva para se defender de seus concorrentes naturais (SOUZA FILHO, 2002).

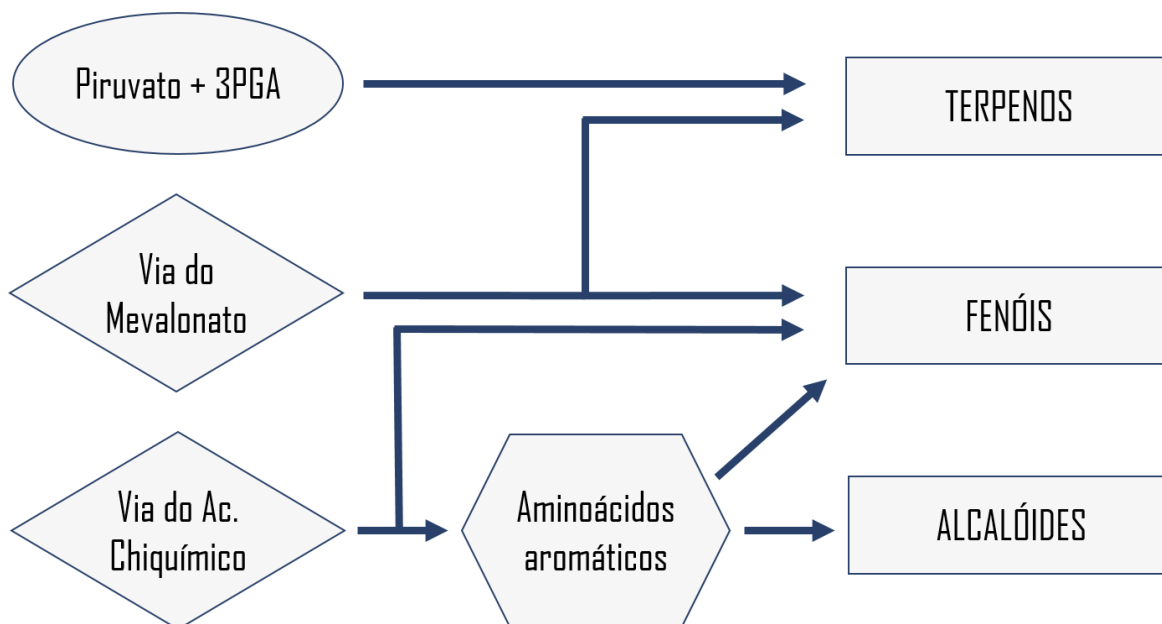
Embora não sejam essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas, os metabólitos secundários são extremamente importantes para garantir a sobrevivência das plantas no meio em que vivem. Desempenham o papel na competição entre plantas, atraem polinizadores e dispersores de sementes para a disseminação da espécie, repelem insetos e, também, podem proteger a planta contra estresses abióticos, como temperaturas extremas, umidade, luminosidade, falta de nutrientes, dentre outros (PERES, 2004).

Possuem uma importância ecológica por apresentarem como principal função a proteção contra pragas e patógenos. Diversas espécies de plantas produzem substâncias que atuam como inseticidas e fungicidas naturais e, com a crescente preocupação com o meio ambiente, a escolha por produtos naturais vem sendo uma alternativa sustentável (PERES, 2004).

Além disso, os metabólitos secundários possuem uma grande importância econômica, já que são muito utilizados na fitomedicina, com o uso de remédios naturais produzidos através de extratos vegetais, e na nutracêutica, utilizando alimentos funcionais, com benefícios à saúde humana, para prevenir doenças graves. Também são muito utilizados pelas indústrias de cosméticos, como princípios ativos contra o envelhecimento através dos compostos antioxidante, utilização de fragrâncias, na indústria alimentícia com o uso de corantes naturais, conservantes e substâncias para dar sabor e cheiro agradável, dentre outras diversas aplicações industriais (PERES, 2004).

De acordo com sua rota biosintética, os metabólitos secundários podem ser classificados em três grupos quimicamente distintos: terpenos, compostos fenólicos e alcaloides (CROTEAU *et al.*, 2000; SHAHIDI, 2005; TAIZ; ZEIGER, 2006).

Figura 1 - Derivações dos três principais grupos de metabólitos secundários.



Fonte: Da autora (2021).

2.3 Terpenos

Os terpenos ou terpenóides derivam do ácido mevalônico, produzido no citoplasma, ou do piruvato e 3-fosfoglicerato, produzidos no cloroplasto e são a classe de produtos naturais mais variada estruturalmente. Se assemelham aos polímeros, onde cada unidade básica de terpeno, denominada isopreno, é uma molécula de cinco carbonos que se unem a outras moléculas de cinco carbonos para formar os terpenos, que serão classificados de acordo com o número de unidades de isoprenos justapostos (FELIPE; BICAS, 2017).

Os monoterpenos possuem baixo peso molecular e, por isso, são substâncias que se volatilizam facilmente, sendo eles, os óleos essenciais ou essências, muito utilizados em perfumes e para adicionar sabor aos alimentos. Possuem a função de atrair polinizadores, como o limoneno e o mentol, possuindo cheiro agradável, ou de repelir insetos, como os piretroides, inseticidas naturais (PAVARINI; LOPES, 2016).

Os sesquiterpenoides também são considerados de baixo peso molecular e atuam como antibiótico, protegendo as plantas contra infecções microbianas e estão associados à resistência

a pragas em algumas espécies. Já os diterpenos são representados principalmente pela giberelina, importante hormônio vegetal, e, também, estão associados às resinas de muitas plantas. Como triterpenos, pode-se citar as saponinas, que defendem as plantas contra insetos e microorganismos (VIZZOTTO *et al.*, 2010).

As saponinas são exemplos de triterpenos. Os carotenos e as xantofilas pertencem à classe dos tetraterpenos. Além de serem importantes compostos para as plantas, participando da fotossíntese e sendo importantes antioxidantes, os carotenos e xantofilas também *desempenham importante papel para os animais, sendo muito benéficos à saúde* (VIZZOTTO *et al.*, 2010). Finalmente, o último grupo dos terpenos são os polisoprenos, compostos pela borracha presente no látex de várias espécies, sendo a seringueira a mais conhecida (PERES, 2004).

2.4 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são feitos a partir do ácido chiquímico ou ácido mevalônico. São responsáveis pelos sabores, odores e coloração de vários vegetais e estão muito presentes no nosso dia a dia. Protegem as plantas contra fatores abióticos e bióticos e estão envolvidos, principalmente, na sinalização entre plantas e outros organismos, através das atrativas cores das flores, por exemplo, além da proteção contra raios ultravioletas. Um exemplo de composto fenólico são os flavonoides, que possuem importantes benefícios para a saúde humana, como redução das placas de gorduras nas artérias, no combate às alergias, colesterol, diabetes, osteoporose, câncer, dentre outras doenças (VIZZOTTO *et al.*, 2010).

2.5 Alcaloides

Os alcaloides são produzidos a partir dos aminoácidos aromáticos, triptofano e tirosina, que são derivados do ácido chiquímico e de aminoácidos aromáticos. São compostos orgânicos cíclicos, possuindo, pelo menos, um átomo de nitrogênio em seu anel. São produzidos no retículo endoplasmático e concentram-se nos vacúolos, não aparecendo em células jovens (PERES, 2004).

Essa classe de metabólitos é conhecida pelas substâncias que causam efeito no sistema nervoso, sendo utilizadas como venenos ou alucinógenos (VIZZOTTO *et al.*, 2010). Os mais conhecidos são a nicotina, a cocaína, a morfina e a cafeína. Essas substâncias possuem função

protetora nas plantas, contra herbívoros e podem ser utilizadas como inseticida natural (PERES, 2004).

2.6 Cultura de tecidos vegetais *in vitro*

A cultura de tecidos vegetais *in vitro* consiste no cultivo, em ambiente asséptico, de células, órgãos, tecidos ou da planta inteira, sob condições controladas, com oferta adequada de nutrientes, pH ideal, temperatura e fotoperíodo monitorados, conduzidos em laboratório (MORAIS, 2012).

Esta técnica tem aumentado nos últimos anos por possuir importante papel na área de melhoramento genético na agricultura, mas seu início se deu em 1902, com Haberlandt, considerado o pai da cultura de tecidos, que estudou a capacidade de uma única célula se regenerar e se diferenciar, originando outra planta. Nos 50 anos seguintes, houve pouco progresso na área, mas, em 1957, foi realizado o trabalho clássico da cultura de tecidos por Skoog e Miller, no qual foi estudado o efeito do balanço auxina/citocinina sobre a resposta morfogênica *in vitro*, alavancando futuras pesquisas.

A técnica da cultura de tecidos consiste em extrair pequenas partes da planta matriz, chamados de explantes, que serão cultivados em meio de cultura contendo os nutrientes necessários para que se desenvolva em uma nova planta, gerando, em um menor período de tempo, mudas sadias (AKIN-IDOWU, 2009). Existem diferentes formas de se obter um explante, variando de acordo com a espécie, idade da planta, sanidade, resposta do explante, dentre outros, podendo ser utilizados sementes, brotos, segmentos caulinares, radiculares e foliares, dentre outros (CARVALHO; VIDAL, 2003). Além disso, a escolha do tipo de explante utilizado vai depender também, do resultado que se deseja obter.

É importante destacar que a cultura de tecidos só é possível devido a totipotencialidade da célula, ou seja, o atributo ou propriedade da célula de se dividir e desenvolver uma nova estrutura diferenciada ou a um organismo completo (TERMIGNONI, 2005). Desta forma, são necessários alguns cuidados para que o explante se desenvolva bem, iniciando com a excisão e assepsia adequada do material propagado, além do estabelecimento, manutenção e multiplicação ideal da cultura *in vitro*.

Um dos maiores desafios ao iniciar e manter uma cultura *in vitro* é a etapa de obtenção do explante. O material que será propagado e que veio do campo, pode estar contaminado por microrganismos, como fungos e bactérias, que dificultam a obtenção de uma cultura axênica *in vitro*, impedindo que as plântulas se desenvolvam, impossibilitando sua sobrevivência

(XAVIER; WENDLING; SILVA, 2013). Para que este problema seja solucionado, é necessário realizar uma desinfestação eficiente do material que veio do campo, com a finalidade de eliminar todos os microrganismos que podem estar presentes nos explantes.

Até então, o processo mais utilizado para a desinfestação do material vegetal é deixando a fonte do explante de molho em álcool etílico, na concentração de 50 a 70%, durante um a três minutos, isso fará com que a tensão superficial do material vegetal se quebre, facilitando a próxima etapa de desinfestação. Em seguida, é utilizado hipoclorito de sódio ou de cálcio na concentração de 0,5 a 2,5% por 5 a 20 minutos, na sequência, o material é lavado por três a cinco vezes em água destilada autoclavada (DA COSTA CHAVES; SCHUCH; CRISTIANOERIG, 2005).

Após a desinfestação, os explantes já estão preparados para serem cultivados em meio de cultura. No entanto, além do problema com a sanidade do material vegetal que veio do campo, o cultivo *in vitro*, como qualquer outro processo, é sensível a problemas de ordem ambiental ou biológicos, como a oxidação.

Dependendo do tipo de explante e da espécie utilizada, pode ocorrer o escurecimento do meio, causado pela oxidação dos compostos fenólicos que escapam pelos cortes realizados no explante (BHAT; CHANDEL, 1991). Frequentemente, os explantes continuam a escurecer depois de serem inoculados no meio de cultura, onde substâncias coloridas escuras lixiviam dos ferimentos causados pelos cortes e deixam o meio escuro ao redor do explante.

Nem todos os compostos lixiviados impossibilitam o desenvolvimento do explante, mas resultados frequentes mostram que o crescimento é inibido e muitos tecidos morrem. Desta forma, algumas medidas devem ser tomadas para minimizar este problema. Dentre elas, deve-se evitar danos causados ao explante no momento do corte, lavar o material vegetal em água corrente para remover o excesso de compostos fenólicos produzidos, realizar frequentes subcultivos, adicionar substâncias antioxidantes no meio de cultura, dentre outras (RUBINOVICH *et al.*, 2019).

2.7 Cultura de calos

A cultura de calos é uma técnica de multiplicação *in vitro* que ocorre por meio da organogênese indireta, ou seja, o explante, no momento de seu desenvolvimento para regenerar outra planta, passa pela fase de calos, não formando o órgão diretamente. A obtenção dos calos é interessante quando se deseja induzir a variação somaclonal para estudos fisiológicos, ou

quando se deseja estudar a produção de metabólitos secundários com o crescimento celular (PIERIK, 1990).

Para induzir a formação de calos, pode ser utilizado qualquer tecido vegetal, no entanto, é recomendado que se utilize explantes que possuam maior proporção de tecido meristemático ou que apresentem células com boa totipotencialidade. É indicada a utilização de tecidos jovens e não lignificados (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Na maioria das vezes, é fundamental a adição de reguladores de crescimento no meio de cultura, para induzir a calogênese, como por exemplo, o uso da auxina. Porém, é importante levar em consideração o balanço hormonal entre as auxinas e citocininas endógenas e exógenas ao explante. Nogueira *et al.* (2007), apontam o thidiazuron (TDZ) e o 2,4D como os reguladores mais utilizados para a indução de calos em plantas medicinais. Dodds e Roberts (1982) mencionam a adição de 2,4D mais BAP (6-Benzilaminopurina) no meio de cultura para a obtenção de calos em discos de raiz de batata-doce. Já Handley e Locy (1984), indicam o uso somente de 2-4D adicionado ao meio de cultura para a obter calos em secções de raízes de batata-doce.

Culturas não organizadas, como calos e suspensão de células, estão sendo estudadas com o objetivo de produzir metabólitos secundários e vêm obtendo sucesso nas pesquisas (GYORGY *et al.*, 2005). Através deste modelo, é possível analisar a relação entre a produção do metabólito secundário e o crescimento em termos de número e morfologia celular (KARAM *et al.*, 2003; FURDEN *et al.*, 2005). Porém, fatores como a luz, tipo de frasco e o meio de cultura, também podem influenciar a taxa de produção de produtos secundários (REIS *et al.*, 2009).

2.8 Micropropagação de batata-doce

A solução para obter mudas de batata-doce saudáveis, uniformes e em larga escala é através da micropropagação. Esta técnica já é largamente utilizada para esta espécie e apresenta bons resultados. A batata-doce se desenvolve bem em meio de cultura, sendo desnecessário o uso frequente de reguladores de crescimento para o estabelecimento e desenvolvimento *in vitro* (VETTORAZZI *et al.*, 2017).

Através da cultura de meristemas, a batata-doce é estabelecida em meio de cultura, evitando a disseminação de doenças que estavam presentes na planta matriz. Após o estabelecimento, a micropropagação é realizada por meio da cultura de nós, onde o explante é obtido através do corte do caule das plantas estabelecidas contendo uma gema, multiplicando e

obtendo inúmeras mudas geneticamente idênticas à planta matriz e com alta sanidade (DEWIR, 2020).

2.9 Produção de metabólitos secundários *in vitro*

Em razão das variadas funções biológicas dos metabólitos secundários das plantas, estes são muito utilizados na medicina popular, medicamentos atuais, cosméticos, mais recentemente nos nutracêuticos, dentre outros (BARBOSA-FILHO *et al.*, 2008). Apesar dos avanços dos produtos sintéticos, ainda existe grande interesse na extração desses produtos naturais. Além disso, por serem produtos escassos, o desejo de produzir mais em menos tempo e espaço é grande nos dias de hoje.

Adicionalmente, as espécies que possuem a capacidade de produzir esses compostos bioativos são obtidas indiscriminadamente. Por isso, há alguns anos, estudos vêm sendo realizados na área de cultura de tecidos para a produção desses compostos *in vitro*, sendo vantajoso tanto do ponto de vista ecológico quanto do tecnológico.

A técnica de produção de metabólitos secundários *in vitro* já vem sendo aplicada em diversas espécies. Consiste em estabelecer o explante da planta desejada e induzir a formação de calos e suspensão de células, para que se produza compostos em maior quantidade. Além disso, propõe um estado de desenvolvimento das células mais uniforme, não há contaminação, o ciclo vegetativo é reduzido e as culturas de células de plantas podem acumular metabólitos secundários em curto período de tempo, que varia entre duas a três semanas (FUMAGALI, 2008).

Muitas estratégias são utilizadas para aumentar a produtividade de metabólitos secundários vegetais *in vitro*, como a adição de compostos precursores ao meio de cultivo (SILVESTRINI *et al.*, 2002), a elicitação (WANG; ZHONG, 2002) e a transformação genética usando o sistema de vetor natural mediado por *Agrobacterium rhizogenes* ou *A. tumefaciens* (GIRI; NARASU, 2000) e diversos princípios ativos já foram obtidos via técnicas de cultura de tecidos. Como exemplos, pode-se citar os alcalóides aparicina, aspidochibina e ramiflorina (OLIVEIRA *et al.*, 2002).

A cultura de calos pode ser um sistema efetivo para a produção de metabólitos secundários específicos. Além disso, a produção desses compostos pode ser maximizada com o uso de elicitores no meio de cultura (NAMDEO *et al.*, 2007). Alguns desses elicitores são ácido salicílico, extratos, sacarose (SEIDEL *et al.*, 2002, NAIK *et al.*, 2016, RUBINOVICH *et*

al, 2019) que podem causar estresse ao vegetal e aumentar a produção de compostos para sua defesa (FAZAL *et al.*, 2016).

REFERÊNCIAS

- ALAM, I. *et al.* Effect of Growth Regulators on Meristem Culture and Plantlet Establishment in Sweet Potato [*Ipomoea Batatas*](L.) Lam.]. **Plant Omics**, [S.l.], v. 3, n. 2, p. 35, 2010.
- AZEVEDO, A. M.; ANDRADE JUNIOR, V. C.; VIANA, D. J. S.; ELSAYED, A.; PEDROSA, C. E.; NEIVA, I. P.; FIGUEIREDO, J. A. Influence of harvest time and cultivation sites on the productivity and quality of sweet potato. **Horticultura Brasileira**, [S.l.], v. 32, p. 21-27, 2014.
- BARBOSA-FILHO, J. M. *et al.* Sources of alpha-, beta-, gamma-, delta-and epsilon-carotenes: A twentieth century review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S.l.], v. 18, n. 1, p. 135-154, 2008.
- BEVILAQUA, L. K. A. *et al.* **Características morfológicas e produtivas de clones de batata-doce**. Caderno de Ciências Agrárias, [S.l.], v. 11, p. 1-7, 2019.
- BHAT, S. R.; CHANDEL, K. P. S. A novel technique to overcome browning in tissue culture. **Plant Cell Reports**, [S.l.], v. 10, n. 6-7, p. 358-361, 1991.
- BOVELL-BENJAMIN, A. C. Sweet potato: a review of its past, present, and future role in human nutrition. **Advances in Food and Nutrition Research**, [S.l.], v. 52, p. 1-59, 2007.
- CAMARGO, L. K. P. *et al.* Uso de índice de seleção na identificação de genótipos de batata-doce com diferentes aptidões. **Horticultura Brasileira**, [S.l.], v. 34, p. 514-519, 2016.
- CAMIRE, M. E.; KUBOW, S.; DONNELLY, D. J. Potatoes and human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [S.l.], v. 49, n. 10, p. 823-840, 2009.
- CARVALHO, J. M. F. C.; VIDAL, M. S. **Noções de cultivo de tecidos vegetais**. Embrapa Algodão, 2003. (Documentos).
- CASTRO-LÓPEZ, C. *et al.* Impact of extraction techniques on antioxidant capacities and phytochemical composition of polyphenol-rich extracts. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 237, p. 1139-1148, 2017.
- CHAVES, A. da C.; SCHUCH, M. W.; CRISTIANOERIG, A. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* L. **Ciência e Agrotecnologia**, [S.l.], v. 29, n. 6, dez. 2005.
- CHU, M. *et al.* A new strategy to enhance the biosynthesis of trans-resveratrol by overexpressing stilbene synthase gene in elicited *Vitis vinifera* cell cultures. **Plant Physiology and Biochemistry**, [S.l.], v. 113, p. 141-148, 2017.
- CLARK, C. A. *et al.* Sweetpotato viruses: 15 years of progress on understanding and managing complex diseases. **Plant Disease**, [S.l.], v. 96, n. 2, p. 168-185, 2012.
- CROTEAU, R. *et al.* Natural products (secondary metabolites). **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**, [S.l.], v. 24, p. 1250-1319, 2000.

DA SILVA, G. O.; VENDRAME, L. P de C.; AMARO, G. B. **Desempenho de clones de batata-doce para caracteres de rendimento e qualidade de raiz**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2019.

DEWIR, Y. H. *et al.* Optimization of media formulation for axillary shoot multiplication of the red-peeled sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam.) ‘Abees’. **Chil. J. Agric. Res.**, Chillán, v. 80, n. 1, p. 3-10, marzo. 2020.

DORNAS, W. C. *et al.* Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, [S.l.], v. 28, n. 3, p. 241-249, 2009.

DUVERNAY, W. H.; CHINN, M. S.; YENCHO, G. Craig. Hydrolysis and fermentation of sweetpotatoes for production of fermentable sugars and ethanol. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 42, p. 527-537, 2013.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Batata-doce Beauregard**. Brasília: EMBRAPA-CNPq, 2010.

ESPINOSA-LEAL, C. A.; PUENTE-GARZA, C. A.; GARCÍA-LARA, S. *In vitro* plant tissue culture: means for production of biological active compounds. **Planta**, [S.l.], v. 248, n. 1, p. 1-18, 2018.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Screening crop genotypes for mineral stresses. In: WORKSHOP ON ADAPTATION OF PLANTS TO SOIL STRESSES, 1993, Lincoln. **Proceedings...** [Lincoln]: USAID: INTSORMIL: University of Nebraska, 1993.

FAZAL, H. *et al.* Sucrose induced osmotic stress and photoperiod regimes enhanced the biomass and production of antioxidant secondary metabolites in shake-flask suspension cultures of *Prunella vulgaris* L. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, [S.l.], v. 124, n. 3, p. 573-581, 2016.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, [S.l.], v. 39, n. 2, p. 120–130, 2017.

FRANKOW-LINDBERG, B. E. *et al.* Effect of harvesting interval and defoliation on yield and chemical composition of leaves, stems and tubers of sweet potato (*Ipomoea batatas* L. (Lam.)) plant parts. **Field Crops Research**, [S.l.], v. 82, n. 1, p. 49-58, 2003.

FUMAGALI, E. *et al.* Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S.l.], v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008.

FURLANETO, F. P. B.; FIRETTI, R.; MONTES, S. M. N. M. Comercialização, custos e indicadores de rentabilidade da batata-doce. **Pesquisa & Tecnologia**, [S.l.], v. 9, n. 2, jul./dez 2012.

GIRI, A.; NARASU, M. L. Transgenic hairy roots: recent trends and applications. **Biotechnology Advances**, [S.l.], v. 18, n. 1, p. 1-22, 2000.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**, [S.l.], v. 1, p. 183-260, 1998.

GYORGY, Z. *et al.* Enhanced biotransformation capacity of *Rhodiola rosea* callus cultures for glycosid production. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, [S.l.], v. 83, n. 2, p. 129-135, 2005.

HOWAT, S. *et al.* Paclitaxel: biosynthesis, production and future prospects. **New Biotechnology**, [S.l.], v. 31, n. 3, p. 242-245, 2014.

ISLAM, S. Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) leaf: its potential effect on human health and nutrition. **Journal of Food Science**, [S.l.], v. 71, n. 2, p. R13-R121, 2006.

ISLAM, S. **Nutritional and medicinal qualities of sweetpotato tops and leaves**. University of Arkansas: Cooperative Extension Service, 2014.

Jl, H. *et al.* Analysis on the nutrition composition and antioxidant activity of different types of sweet potato cultivars. **Food and Nutrition Sciences**, [S.l.], v. 6, n. 01, p. 161, 2015.

KARAM, N. S. *et al.* Growth and rosmarinic acid accumulation in callus, cell suspension, and root cultures of wild *Salvia fruticosa*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, [S.l.], v. 73, n. 2, p. 117-121, 2003.

KEHOE, S. H.; CHOPRA, H.; SAHARIAH, S. A.; BHAT, D.; MUNSHI, R. P.; PANCHAL, F.; YOUNG, S.; BROWN, N.; TARWANDE, D.; GANDHI, M.; MARGETTS, B. M.; POTDAR, R. D.; FALL, C. H. Effects of a food-based intervention on markers of micronutrient status among Indian women of low socio-economic status. **British Journal of Nutrition**, [S.l.], v. 113, n. 5, p. 813-821, 2015.

KIM, H. J. *et al.* Variations in the carotenoid and anthocyanin contents of Korean cultural varieties and home-processed sweet potatoes. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S.l.], v. 41, p. 188-193, 2015.

LEONEL, M; CEREDA, M. P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [S.l.], v. 22, p. 65-69, 2002.

MARQUES, K. R. *et al.* Resistência de genótipos de batata-doce ao mal-do-pé. Cultura Agronômica. **Revista de Ciências Agronômicas**, [S.l.], v. 27, n. 2, p. 287-301, 2018.

MORAIS, T. P. *et al.* Aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, [S.l.], v. 14, n. 1, p. 110-121, 2012.

NAGAMINE, R. *et al.* Dietary sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaf extract attenuates hyperglycaemia by enhancing the secretion of glucagon-like peptide-1 (GLP-1). **Food & Function**, [S.l.], v. 5, n. 9, p. 2309-2316, 2014.

NAMDEO, A. G. *et al.* Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. **Pharmacogn Rev.**, [S.l.], v. 1, n. 1, p. 69-79, 2007.

- NEUMANN, E. R. *et al.* Produção de mudas de batata-doce em ambiente protegido com aplicação de extrato de *Ascophyllum nodosum*. **Horticultura Brasileira**, [S.l.], v. 35, n. 4, p. 490-498, 2017.
- NOGUEIRA, R. C. *et al.* Indução de calos em explantes foliares de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.). **Ciência e Agrotecnologia**, [S.l.], v. 31, n. 2, p. 366-370, 2007.
- OLIVEIRA, C. M. *et al.* Efeito de reguladores de crescimento na micropropagação in vitro de batata-doce. **Global Science And Technology**, [S.l.], v. 6, n. 3, 2013.
- PAVARINI, D. P.; LOPES, N. P. A Ecologia Química e a Biossíntese dos Terpenos Voláteis das “Arnica-da-Serra” (*Lychnophora* spp.). **Revista Virtual de Química**, [S.l.], v. 8, n. 1, p. 242- 261, 2016.
- PEDROSA, C. E. *et al.* Yield and quality of wilted sweet potato vines and its silages. **Horticultura Brasileira**, [S.l.], v. 33, n. 3, p. 283-289, 2015.
- PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário**. Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. ESALQ/USP, 2004. p. 1-10.
- PIERIK, R. L. M. *et al.* Cultivo *in vitro* de las plantas superiores. **Sci. Agric.**, Piracicaba, v. 57, n. 2, jun. 2000.
- PROTEGGENTE, A. R. *et al.* The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. **Free Radical Research**, [S.l.], v. 36, n. 2, p. 217-233, 2002.
- REIS, E. S. *et al.* Teor e composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. in vitro sob influência do meio de cultura. **Acta Scientiarum. Agronomy**, [S.l.], v. 31, n. 2, p. 331-335, 2009.
- ROULLIER, C.; DUPUTIE, A.; WENNEKES, P.; BENOIT, L.; FERNÁNDEZ BRINGAS, V. M.; ROSSEL, G. Disentangling the origins of cultivated sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). **PLoS ONE**, [S.l.], v. 8, p. e62707, 2013.
- RUBINOVICH, L. *et al.* Establishment of *Punica granatum* L. peel cell culture to produce bioactive compounds. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, [S.l.], v. 138, n. 1, p. 131-140, 2019.
- SHAHIDI, F. *et al.* **Phenolic compounds in foods and natural health products**. ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, 2005.
- SILVA, G. O. da; SUINAGA, F. A.; PONIJALEKI, R.; AMARO, G. B. Desempenho de cultivares de batata-doce para caracteres relacionados com o rendimento de raiz. **Ceres**, [S.l.], v. 62, n. 4, p. 333-341, 2015.
- SILVESTRINI, A. *et al.* Effects of alkaloid precursor feeding on a *Camptotheca acuminata* cell line. **Plant Physiology and Biochemistry**, [S.l.], v. 40, n. 9, p. 749-753, 2002.

SOARES, K. T.; MELO, A. de; MATIAS, E. C. **A cultura da batata-doce (Ipomoea batatas (L.) Lam.)**. João Pessoa: EMEPA-PB, 2002.

SOUZA FILHO, A. P. da S. **Alelopatia**: princípios básicos e aspectos gerais. Embrapa Amazônia Oriental, 2002.

SUDA, I. *et al.* Physiological functionality of purple-fleshed sweet potatoes containing anthocyanins and their utilization in foods. **Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ**, v. 37, n. 3, p. 167-173, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 719 p., 2012.

_____. **Plant physiology**. 4. ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc., 2006.

TERMIGNONI, R. R. **Cultura de tecidos vegetais**. Rio Grande do Sul: UFRGS, 2005.

VETTORAZZI, R. G. *et al.* Developing an in vitro optimized protocol to sweet potato landraces conservation. *Acta Scientiarum. Agronomy, [S.l.]*, v. 39, n. 3, p. 359-367, 2017.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C. R.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Embrapa Clima Temperado-Documents (INFOTECA-E), 2010.

WANG, Z.; ZHONG, J.; Combination of conditioned medium and elicitation enhances taxoid production in bioreactor cultures of *Taxus chinensis* cells. **Biochemical Engineering Journal, [S.l.]**, v. 12, n. 2, p. 93-97, 2002.

WOOLFE, J. A. **Sweet potato**: an untapped food resource. Cambridge: Cambridge University Press, International Potato Centre, 2008.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. S. **Silvicultura clonal**: Princípios e Técnicas. 2. ed. Viçosa: UFV, 2013. 279 p.

YOSHINAGA, M.; YAMAKAWA, O; NAKATANI, M. Genotypic diversity of anthocyanin content and composition in purple-fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). **Breeding Science, [S.l.]**, v. 49, n. 1, p. 43-47, 1999.

ZHANG, C. *et al.* Chemical Characterization and Antioxidant Properties of Ethanolic Extract and Its Fractions from Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L.) Leaves. **Foods, [S.l.]**, v. 9, n. 1, p. 15, 2020.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS*

ARTIGO 1 INDUÇÃO DE CALOS EM EXPLANTES DE FOLHA, CAULE E RAIZ DE BATATA-DOCE

RESUMO

A indução da formação de calos em explantes inoculados *in vitro* é um processo importante para auxiliar o melhoramento genético, através da variação somaclonal obtida na calogênese, para a produção de calos embriogênicos, para propagação das espécies ou para a produção de metabólitos secundários. A batata-doce é considerado um alimento extremamente nutritivo e, além de sua importância nutricional, também possui grande importância econômica no Brasil e no mundo, especialmente para pequenos produtores, por ser uma cultura com baixo custo de produção. O objetivo deste trabalho foi induzir a produção de calos em explantes foliares, caulinares e radiculares de batata-doce, em meio de cultura com a auxina 2,4D e com ANA, e suas interações com as citocininas BAP e KIN. Para isso, foram utilizados explantes de folha, caule e raiz da batata-doce Brazlândia Branca em meio de cultura contendo 1 mg L⁻¹ de ANA (ácido naftalenoacético) e 10 mg L⁻¹ de BAP (6-Benzylaminopurine), outro suplementado com 3 mg L⁻¹ de 2,4D (ácido diclorofenoxiacético), o terceiro com 2 mg L⁻¹ de ANA mais 2 mg L⁻¹ de KIN (cinetina) e o tratamento controle sem nenhum tipo de regulador de crescimento. As avaliações e a análise de imagem pelo sistema GroundEye foram feitas com 45 e 90 dias. Para todos os explantes inoculados em meio de cultura com regulador de crescimento houve formação de calos, os explantes de folha e caule apresentaram maior massa que os explantes da raiz e o meio de cultura que proporcionou melhor desenvolvimento dos calos foi dependente da parte da planta da qual o explante foi obtido. Considerando as imagens capturadas pelo GroundEye, os calos desenvolvidos em meio de cultura contendo 2,4D apresentam friabilidade e coloração amarela mesmo quando conduzidos em ambiente claro. Já os calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP ou ANA + KIN são compactos e, quando submetidos a luz, apresentam coloração verde.

Palavras-chave: *Ipomoea batatas*. Reguladores de crescimento. Cultura de tecidos.

ABSTRACT

The induction of callus formation in *in vitro* inoculated explants is an important process to aid genetic improvement, through somaclonal variation obtained in callogenesis, for the production of embryogenic calluses, for species propagation or for the production of secondary metabolites. Sweet potato is considered an extremely nutritious food and, in addition to its nutritional importance, it also has great economic importance in Brazil and worldwide, especially for small producers, as it is a low-cost crop. The objective of this work was to induce callus production in foliar, stem and root explants of sweet potato, in a culture medium with 2,4D auxin and with ANA and their interactions with cytokinins BAP and KIN. For this purpose, leaf, stem and root explants of Brazlândia Branca sweet potato were used in a culture medium containing 1 mg L⁻¹ of NAA (naphthaleneacetic acid) and 10 mg L⁻¹ of BAP (6-Benzylaminopurine), another supplemented with 3 mg L⁻¹ of 2,4D (dichlorophenoxyacetic acid), the third with 2 mg L⁻¹ of ANA plus 2 mg L⁻¹ of KIN (kinetin) and the control treatment without any type of growth regulator. The evaluations and image analysis using the GroundEye system were performed at 45 and 90 days. For all explants inoculated in culture medium with growth regulator there was callus formation, leaf and stem explants had greater mass than root explants and the culture medium that provided better callus development was dependent on the

part of the plant. which explant was obtained. Considering the images captured by GroundEye, calluses developed in a culture medium containing 2.4D have friability and yellow coloration even when conducted in a bright environment. On the other hand, calluses developed in a culture medium supplemented with NAA + BAP or NAA + KIN are compact and, when subjected to light, have a green color.

Keywords: *Ipomoea-batatas*. Growth regulators. Tissue culture.

1 INTRODUÇÃO

A indução da formação de calos em explantes inoculados *in vitro* é um processo importante para auxiliar o melhoramento genético, através da variação somaclonal obtida na calogênese, para a produção de calos embriogênicos para propagação das espécies ou para a produção de metabólitos secundários (PIERIK, 1990). A cultura de calos ocorre por meio da organogênese indireta de um explante obtido de qualquer tecido vegetal de uma planta. Na maioria das vezes é fundamental o uso de reguladores de crescimento no meio de cultura para induzir a calogênese.

Diversos fatores podem influenciar na indução de calos, como a composição do meio de cultura, a fonte do explante, a luminosidade, o genótipo da planta matriz, dentre outros (DHARMAPAL *et al.*, 2017). Além disso, os reguladores de crescimento são determinantes para a indução de calos no explante de uma espécie (THORPE, 1994).

A batata-doce é uma cultura com muito potencial para a produção de biocombustível, alimentos, tecidos, aditivos para cosméticos, corantes, dentre outros (SILVA *et al.*, 2019; DONATO *et al.*, 2020). É considerado um alimento extremamente nutritivo, e além de sua importância nutricional, também possui grande importância econômica no Brasil e no mundo, especialmente para pequenos produtores, por ser uma cultura com baixo custo de produção (FAOSTAT, 2020; PEDROSA *et al.*, 2015). Na cultura de tecidos vegetais, a micropropagação da batata-doce é uma alternativa eficaz para obter mudas saudáveis, uniformes e em larga escala, já que a estaquia, técnica de propagação vegetativa mais utilizada para essa cultura, pode gerar mudas com baixa qualidade (FURLANETO *et al.*, 2012; VEITORAZZI *et al.*, 2017; DEWIR, 2020).

Estudos realizados por Addae-Frimpong *et al.* (2014) mostram que o uso de BAP (6-Benzylaminopurine) e KIN (cinetina) no meio de cultura foram eficientes para induzir a formação de calos em explantes de batata-doce. Assim como meios de cultura suplementados com BAP ou BAP mais GA (giberelina) mais ANA (ácido naftalenoacético) também induzem

a formação de calos em explantes de batata-doce (ABUBAKAR *et al.*, 2018). Pesquisas sobre a calogênese em explantes de batata-doce trazem informações importantes para o uso desta técnica no melhoramento genético, na produção de calos embriogênicos e na produção de metabólitos secundários.

Com isso, objetivou-se induzir a produção de calos em explantes foliares, caulinares e radiculares de batata-doce, em meio de cultura com a auxina 2,4D e com ANA e suas interações com as citocininas BAP e KIN.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

As plantas da cultivar de batata-doce Brazlândia Branca, já estabelecidas no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Lavras (UFLA) em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), foram repicadas, também em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), com 60 mg L⁻¹ de sacarose e 6 mg L⁻¹ de ágar, com pH ajustado para 5,8. Os explantes foram inoculados em tubos contendo 15 mL da solução nutritiva, vedadas com plástico filme transparente e levados para a sala de crescimento, sob temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 16 horas.

2.2 Obtenção dos explantes

Os explantes foram obtidos das folhas, caules e raízes das plantas pré-estabelecidas *in vitro* depois de 45 dias de desenvolvimento. Os explantes das folhas possuíam 25 mm² e foram extraídos de folhas coletadas de forma aleatória, retirando-se a nervura central. Os explantes dos caules, também obtidos de forma aleatória, possuíam 1 mm de altura, sendo colocados no meio de cultivo de modo que uma das faces cortadas estivesse em contato com o meio e a outra face cortada, voltada para cima. Os explantes obtidos das raízes, foram coletados de forma aleatória, cortando 5 mm de comprimento da raiz, e inoculados na horizontal no meio de cultivo.

2.3 Indução dos calos

Para o estudo da indução dos calos nos explantes obtidos de diferentes partes da planta, os tratamentos se distinguiam na suplementação do meio de cultura com reguladores de crescimento variados, a composição geral dos meios de cultura era formada por meio MS, 30 mg L⁻¹ de sacarose, 6 mg L⁻¹ de ágar, com pH ajustado para 5,8.

Estudou-se três composições de meio de cultura. O primeiro meio foi suplementado com 1 mg L⁻¹ de ANA (ácido naftalenoacético) e 10 mg L⁻¹ de BAP (6-Benzylaminopurine). O segundo meio foi suplementado com 3 mg L⁻¹ de 2,4D (ácido diclorofenoxiacético) e terceiro meio de cultura foi suplementado com 2 mg L⁻¹ de ANA mais 2 mg L⁻¹ de KIN (cinetina). Para o controle, o meio de cultura não foi suplementado com nenhum tipo de regulador de crescimento. Os explantes foram inoculados em tubos contendo 15 ml de meio de cultura, vedados com plástico filme transparente e parte dos tubos foram transferidos para sala de crescimento sob temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 16 horas, e outra parte para a incubadora B.O.D, mantidos no escuro sob temperatura controlada de 25 °C.

2.4 Análises dos calos

A contagem dos calos foi realizada de sete em sete dias, a partir do dia de seu estabelecimento. Para a pesagem, metade do tratamento foi pesado aos 45 dias e a outra metade aos 90 dias.

Para verificar a umidade, aos 45 dias e aos 90 dias, os calos úmidos foram pesados em balança de precisão e, em seguida, armazenados em saquinhos de pipoca, levados para a estufa para secagem das amostras a 70 °C por 72 horas e, logo após, realizada a pesagem dos calos secos. A umidade dos calos foi calculada de acordo com a equação:

$$\text{Umidade (\%)} = (\text{Peso úmido} - \text{Peso seco}) * 100 / \text{Peso úmido}$$

A porcentagem do ganho de massa de calos no período entre 45 e 90 dias foi obtido pela equação:

$$\text{Ganho de massa (\%)} = (\text{massa aos 90 dias} - \text{massa aos 45 dias}) * 100 / \text{massa aos 45 dias}$$

2.5 Análise de imagem

A análise de imagem foi feita pelo sistema GorundEye, equipamento que faz a captura de imagens através de uma câmera e analisa as imagens através do software. O equipamento está instalado no Laboratório de Sementes da Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde foram realizadas as análises de coloração e geometria dos calos.

Duas repetições por tratamento foram fotografadas e cada tratamento foi codificado da seguinte forma: a primeira letra indica a parte da planta em que o explante foi obtido (C = caule, F = folha, R = raiz), o número indica o regulador de crescimento adicionado ao meio de cultura (1 = 1 mg L⁻¹ de ANA (ácido naftalenoacético) e 10 mg L⁻¹ de BAP (6-Benzylaminopurine), 2 = 3 mg L⁻¹ de 2,4D (ácido diclorofenoxiacético) e 3 = 2 mg L⁻¹ de ANA mais 2 mg L⁻¹ de KIN (cinetina)) a segunda letra indica o ambiente de desenvolvimento do calo (C = claro (fotoperíodo de 16 horas) e E = escuro) e, por último, o segundo número indica por quantos dias o calo se desenvolveu (45 = 45 dias e 90 = 90 dias). Exemplo: F1C45 – calos de explantes obtidos da folha desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP no claro por 45 dias.

Os calos foram colocados sobre a bandeja de acrílico transparente que é inserida na câmara de captação do equipamento para serem fotografados. Após a coleta das imagens, o GroundEye forneceu relatórios com valores médios para cada descritores analisados.

2.5.1 Coloração

Para avaliar a coloração dos calos, foram observadas as seguintes características de cor: dominância preta, dominância azul, dominância celestial, dominância ciano, dominância cinza escuro, dominância verde, dominância magenta, dominância oliva, dominância laranja, dominância púrpura, dominância vermelha, dominância rosa, dominância turquesa, dominância amarela, dominância branca, matiz, intensidade, luminosidade, saturação, brilho e luma.

2.5.2 Geometria

As características avaliadas para geometria dos calos foram: área, circularidade, esfericidade da forma, diâmetro máximo, diâmetro mínimo e perímetro.

2.6 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com esquema fatorial 4x3x2, quatro meios de cultura (ANA + BAP, 2,4D, ANA + KIN e sem regulador de crescimento), três partes da planta (explantes obtidos da folha, do caule e da raiz) e dois ambientes (fotoperíodo de 16 horas e completamente escuro).

O experimento foi composto por 24 tratamentos, cada tratamento constituía de quatro repetições com cinco tubos cada, totalizando 20 tubos por tratamento. Cada tubo continha um explante.

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância através do programa Sisvar. As médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott, com 5% de significância. Os dados também foram submetidos à análise do software XLSTAT software XLSTAT (versão 2017; Addinsoft, França), obtendo a projeção bidimensional da análise de componentes principais (PCA) e o dendrograma da análise hierárquica de agrupamento (HCA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Massa dos calos aos 45 dias

Os explantes inoculados em meio de cultura sem suplementação de regulador de crescimento não apresentaram nenhum desenvolvimento de calo, independentemente da parte da planta em que foram obtidos, apresentando somente sinais de necrose. Inúmeros fatores podem ser responsáveis por determinar o desenvolvimento e regeneração de um explante de batata-doce inoculada *in vitro*, como o genótipo, a fonte do explante e a concentração de reguladores de crescimento no meio de cultura (SHAIBU *et al.*, 2016). Segundo Thorpe (1994), os reguladores de crescimento são determinantes para uma possível formação de calos em explantes.

De acordo com a ANAVA, existiu interação entre os fatores de variação parte da planta e regulador de crescimento, sendo que, para o meio de cultura suplementado com 2,4D, os explantes obtidos do caule apresentaram maior média de massa de calos que os explantes obtidos das folhas e raízes, não havendo diferença estatística entre estes dois últimos. Já no meio de cultura suplementado com ANA e BAP, os explantes obtidos das folhas, apresentaram maior desenvolvimento de massa de calos, seguido dos explantes obtidos do caule e, com menor massa de calos, os explantes obtidos da raiz. Para o meio de cultura suplementado com ANA e

KIN, os explantes obtidos das folhas e do caule apresentaram maior massa de calos, sem diferença significativa entre eles, e os explantes obtidos da raiz apresentaram menor média (TABELA 1).

O uso de 2,4D para a indução de calos em explantes é muito comum (YOSHINAGA, 1993). Sunáryo *et al.* (2019) observaram que meios de cultura com combinações e concentrações variadas de 2,4D e BAP proporcionaram a formação de calos em explantes da folha e do caule de batata-doce.

Os explantes obtidos das folhas apresentaram menor desenvolvimento de massa de calos no meio de cultura suplementado com 2,4D, apresentando maior média para os calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA e BAP. Já para os explantes obtidos do caule, o meio de cultura suplementado com ANA e KIN proporcionou maior desenvolvimento dos calos. Por fim, para os explantes de raiz, não houve diferença entre as médias de massa de calos de explantes inoculados nas três diferentes composições de meio de cultivo, como mostra a Tabela 1.

Em um experimento realizado por Addae-Fumpomaah *et al.* (2014), os meios de cultura suplementados com BAP ou KIN proporcionaram a formação de calos em explantes de batata-doce. Abubakar *et al.* (2018) também observaram a formação de calos em explantes de batata-doce cultivados em meio de cultura suplementados com BAP ou BAP + GA + ANA.

No geral, os resultados indicam que houve formação de calos em todos os explantes submetidos a tratamentos com adição de reguladores de crescimento no meio de cultura. De acordo com as avaliações, com 30 dias já foi possível observar os calos formados em 100% destes explantes, sendo que, com 14 dias, já era possível observar princípios de formação de calos na maioria deles.

Tabela 1 - Médias da massa (em gramas) de calos formados em explantes obtidos de folha, caule e raiz, de plantas de Brazlândia Branca desenvolvidas *in vitro*, inoculados em meios de cultura suplementados com 2,4D, ANA + BAP e ANA + KIN.

Parte da planta	2,4D	ANA + BAP	ANA + KIN
Folha	0,392 Bc	3,536 Aa	2,395 Ab
Caule	1,214 Ab	1,453 Bb	1,982 Aa
Raiz	0,007 Ba	0,312 Ca	0,332 Ba

CV (%) 27,17

Média geral 1,291 gramas

As médias nas colunas seguidas de mesma letra maiúscula e nas linhas pela mesma letra minúscula, não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

Os explantes submetidos às diferentes composições dos meios de cultura se comportaram de forma semelhante tanto em ambiente claro, com fotoperíodo de 16 horas, quanto em ambiente totalmente escuro, não apresentando diferença estatística.

3.2 Massa dos calos aos 90 dias

A intensidade da luz influencia o desenvolvimento de explantes de espécies micropropagadas (GRUPTA *et al.*, 2000) e, diferentemente do que aconteceu aos 45 dias, aos 90 dias o fator ambiente interferiu no desenvolvimento dos calos. Segundo a análise de variância, houve interação tripla significativa ao comparar as médias das massas dos calos com 90 dias de desenvolvimento. Para o desdobramento parte da planta x regulador de crescimento – ambiente (TABELA 2), observou-se diferenças significativas nos tratamentos submetidos ao ambiente com 16 horas de fotoperíodo (claro).

Os calos de explantes obtidos do caule desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 2,4D apresentaram maior ganho de massa aos 90 dias. Para o meio de cultura suplementado com ANA + BAP, os calos de explantes obtidos de caule, também apresentaram maior massa, seguido dos calos de explantes obtidos das folhas e, por último, os calos de explantes obtidos das raízes. Já para o meio de cultura suplementado com ANA + KIN, não houve diferença significativa entre os calos de explantes obtidos de caule e de folha, apresentando maiores médias de massa aos 90 dias (TABELA 2).

Para o desdobramento regulador de crescimento x parte da planta – ambiente apresentado na Tabela 2, houve diferença significativa para todos os fatores de variação. Para calos de explantes obtidos da folha no ambiente claro, o meio de cultura suplementado com ANA + KIN, proporcionou maior ganho de massa, seguido do meio de cultura suplementado com ANA + BAP, e, proporcionando menor ganho de massa, o meio suplementado com 2,4D. No escuro, os meios de cultura suplementados com BAP + ANA e BAP + KIN proporcionaram maior ganho de massa, sem diferença significativa entre si.

Para explantes obtidos do caule cultivados sob fotoperíodo de 16 horas, os calos apresentaram maior desenvolvimento em meio de cultura suplementado com 2,4D, seguido dos calos desenvolvidos em meio de cultura com ANA + BAP e, por último, os calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + KIN. Já no escuro, o meio suplementado com 2,4D apresentou a menor média dentre os três, como mostrado na Tabela 2.

Os calos de explantes obtidos da raiz desenvolvidos no claro, apresentaram maior massa quando cultivados em meio de cultura suplementado com ANA + KIN, e no escuro, os meios

de cultura ANA + BAP e ANA + KIN não se diferenciaram estatisticamente, apresentando maiores médias (TABELA 2).

A análise do desdobramento ambiente x parte da planta – regulador de crescimento (TABELA 2) indicou diferença significativa somente para os calos de explantes obtidos de caule, cultivados em meios de cultura suplementados com 2,4D e ANA + BAP, obtendo, em ambos, comportamentos semelhantes, onde os calos se desenvolveram mais sob fotoperíodo de 16 horas, apresentando maiores médias de massa aos 90 dias.

Tabela 2 - Médias de massa de calos, de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce, cultivar Brazlândia Branca, desenvolvidos em meios de cultura suplementados com 2,4D, ANA + BAP e ANA + KIN em ambiente claro (sob fotoperíodo de 16 horas) e escuro, aos 90 dias de desenvolvimento.

RC	CLARO			ESCURO		
	Folha	Caule	Raiz	Folha	Caule	Raiz
2,4D	1,995 Cb α	19,301 Aa α	1,025 Bb α	0,212 Ba α	0,346 Ba β	0,141 Ba α
ANA + BAP	4,051 Bb α	9,224 Ba α	4,690 Aca	5,553 Aa α	3,504 Aa β	4,084 Aa α
ANA + KIN	7,139 Aa α	5,185 Ca α	2,450 Ba α	3,973 Aa α	5,219 Aa α	3,336 Ab α
CV (%) 20,97						
Média geral: 4,524 gramas						

RC – Reguladores de crescimento

As médias nas colunas seguidas de mesma letra maiúscula, pela mesma letra minúscula nas linhas para cada ambiente e pela mesma letra grega nas linhas para cada parte da planta não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

O desenvolvimento de calos é afetado por vários fatores do cultivo *in vitro*, incluindo a fonte do explante, composição do meio de cultura e suplementação, fonte de carbono e outras condições do ambiente como a intensidade da luz (KHAN *et al.*, 2016). Para explantes de *Ajuga bracteosa*, Din *et al.* (2019) verificaram que maior massa de calos foi formada em ambiente totalmente escuro por duas semanas, seguido da transferência destes para ambiente claro, com fotoperíodo de 16 horas, mostrando que a luminosidade do ambiente pode afetar o desenvolvimento dos calos, como aconteceu no presente estudo.

3.3 Porcentagem do ganho de massa de calos entre 45 dias e 90 dias de desenvolvimento

De acordo com os resultados analisados apresentados na Tabela 3, os calos conduzidos em ambiente completamente escuro, acumularam maior porcentagem de massa no período de 45 dias (entre o 45º dia e o 90º dia) que os calos conduzidos sob fotoperíodo de 16 horas,

desenvolvendo 81,95% de sua massa total nesse intervalo de tempo, enquanto os calos conduzidos no claro apresentaram um acúmulo de 69,75% de sua massa total entre 45 e 90 dias.

Tabela 3 - Porcentagem média de ganho de massa de calos de explantes de batata-doce, cultivar Brazlândia Branca, entre 45 e 90 dias de desenvolvimento em ambiente com fotoperíodo de 16 horas e ambiente totalmente escuro.

Ambiente	Porcentagem média (%)
Fotoperíodo de 16 horas (claro)	69,75% b
Escuro	81,95% a

CV (%) 13,92%

Média geral: 75,85%

As médias seguidas de mesma letra não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

A interação significativa representada na Tabela 4 mostra que os calos de explantes obtidos de folha acumularam maior massa no período entre 45 e 90 dias quando desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 2,4D. Para calos de explantes do caule, não houve diferença entre os meios de cultura suplementado com 2,4D e ANA + BAP, apresentando menor acúmulo de massa no meio de cultura suplementado com ANA + KIN e para os calos de explantes de raiz, não houve diferença significativa entre os meios de cultura.

Em meio de cultura suplementado com ANA + KIN, os calos de explantes de raiz acumularam maior porcentagem de sua massa total, no período entre 45 e 90 dias. Já para o meio de cultura suplementado com ANA + BAP, foram os calos de explantes de raiz e de caule que acumularam mais massa neste período e para o meio de cultura suplementado com 2,4D, não houve diferença significativa, onde todos os explantes apresentaram alto acúmulo de massa de calos entre 45 e 90 dias (TABELA 4).

Tabela 4 - Porcentagem média de ganho de massa de calos de explantes de folha, caule e raiz de batata-doce, cultivar Brazlândia Branca, entre 45 e 90 dias de desenvolvimento.

Parte da planta	2,4D	ANA + BAP	ANA + KIN
Folha	88,18 Aa	43,42 Bb	40,52 Bb
Caule	93,41 Aa	82,12 Aa	55,52 Bb
Raiz	99,13 Aa	93,03 Aa	87,32 Aa

CV (%) 13,92

Média geral: 75,85%

As médias nas colunas seguidas de mesma letra maiúscula e nas linhas pela mesma letra minúscula, não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

3.4 Umidade

Os calos apresentaram umidade média de 93% em todos os tratamentos, tanto para aqueles avaliados aos 45 dias quanto para aqueles avaliados aos 90 dias.

3.5 Análise de imagem

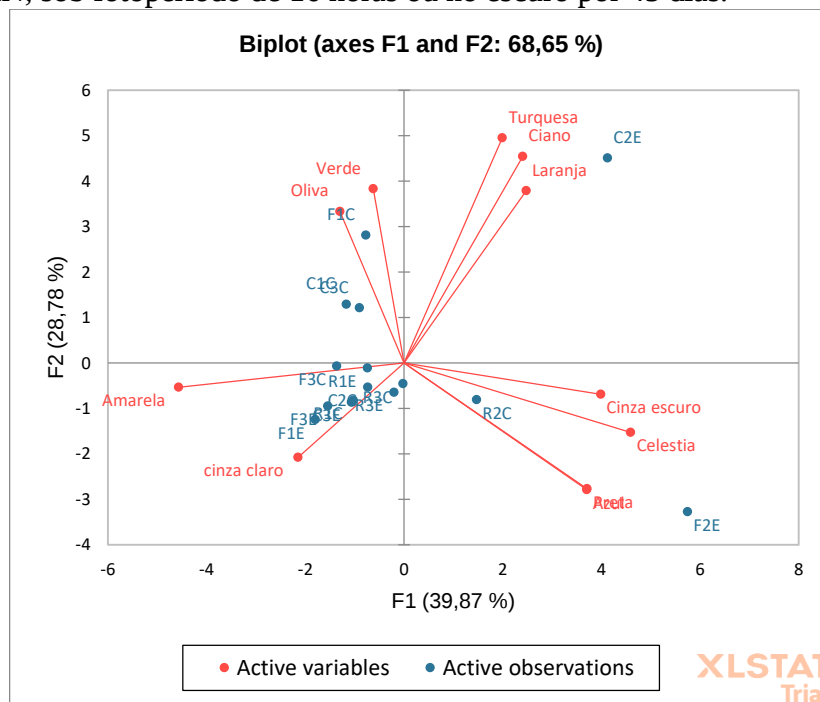
3.5.1 Coloração

A avaliação da cor dos calos obtidos em um experimento pode ser uma referência da produção de compostos específicos na amostra. Porto *et al.* (2020) fez a correlação das cores obtidas em suas amostras de calos de *Brissonima gardneriana* e a produção de antocianinas e observou que calos com a coloração rosa indicavam a presença desse composto.

De acordo com Erig e Schuch (2005), a eficiência e comportamento dos reguladores de crescimento adicionados ao meio de cultura podem ser afetadas pela qualidade da luz. A análise de imagem do sistema GroundEye evidencia a diferença entre os calos desenvolvidos sob fotoperíodo de 16 horas e os calos desenvolvidos no escuro. A análise de componentes principais (PCA), ilustrada pela Figura 1, mostra uma afinidade dos calos desenvolvidos no escuro por 45 dias pela dominância das cores amarela e cinza claro. No entanto observa-se que calos de explantes de caule e folha, desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 2,4D no escuro tiveram pouca dominância do amarelo e do cinza claro, se opondo aos demais.

Segundo o PCA (FIGURA 1), também houve dominância das cores amarela e cinza claro nos calos de explantes de folha e raiz desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + KIN em ambiente claro, nos calos de explantes do caule desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 2,4D em ambiente claro e nos calos de raiz desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP em ambiente claro. Para os calos de explantes de folha e caule desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP em ambiente claro e para os calos de explantes de caule desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + KIN, a projeção demonstrou maior afinidade e dominância das cores verde e oliva.

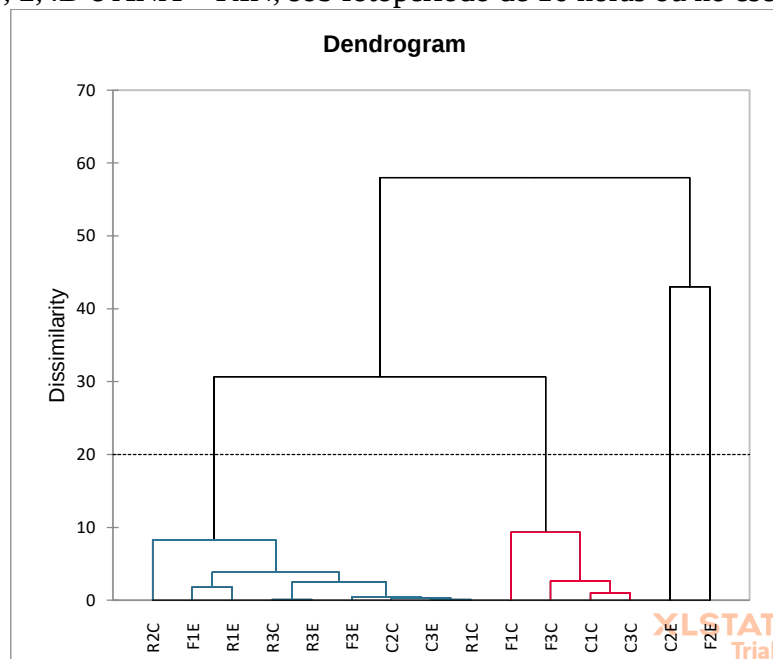
Figura 1 - Projeção bidimensional e pontuação das características de cor em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas ou no escuro por 45 dias.



Fonte: Da autora (2021).

O dendograma (FIGURA 2) apresenta um agrupamento entre calos desenvolvidos no escuro (exceto para explantes de folha e caule inoculados em meio de cultura com 2,4D que foram dissimilares a todo o restante) mais calos de explantes da raiz desenvolvidos em qualquer um dos três meios de cultura em ambiente claro, mostrando a dominância das mesmas cores nestas amostras, sendo elas as cores amarela e cinza claro, como apresentado pelo PCA (FIGURA 1). Observa-se também, a presença da amostra de calos de explantes obtidos do caule desenvolvidos em meio de cultura com 2,4D em ambiente claro, o que evidencia a cor amarelada como característica de calos quando submetidos ao regulador de crescimento 2,4D neste presente trabalho.

Figura 2 - Análise hierárquica de agrupamento (HCA) das características de cor em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas ou no escuro por 45 dias.



Fonte: Da autora (2021).

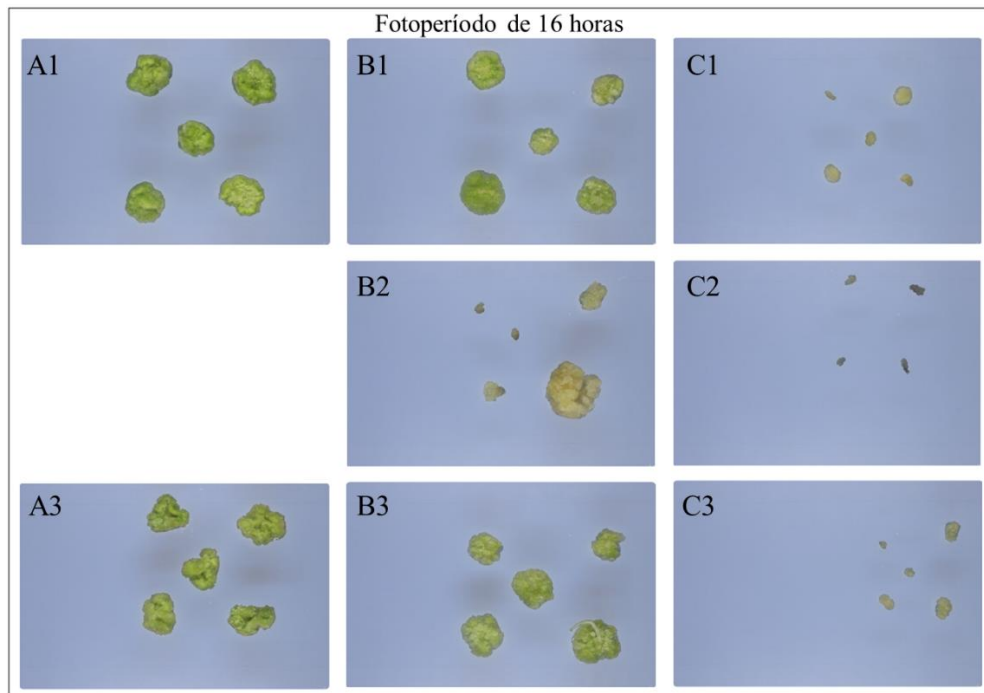
As Figuras 3 e 4 trazem as imagens capturadas pela câmera do equipamento GroundEye para calos desenvolvidos em ambiente claro (FIGURA 3) e em ambiente totalmente escuro (FIGURA 4). Algumas amostras de calos não foram fotografadas pelo equipamento por questões relacionadas à configuração do sistema, portanto, a Figura 5 representa as imagens capturadas pelo celular daquelas que não foi possível obter as imagens pelo GroundEye.

Observa-se que as imagens de calos desenvolvidos na presença de luz apresentam uma coloração esverdeada, também indicado pelos dados da análise de imagem representadas nas Figuras 1 e 2, no entanto, é importante observar a diferença no comportamento dos calos desenvolvidos em meio de cultura com 2,4D que, mesmo em ambiente claro, não possui uma coloração verde.

A coloração verde em calos desenvolvidos em ambiente com fotoperíodo de 16 horas pode representar a presença de clorofilas (TAIZ *et al.*, 2017). É importante considerar os principais tipos de clorofila e as suas diferentes colorações. A clorofila possui uma coloração verde-azulada, devido seu espectro de absorção, apresentando dois picos, na região do azul-violeta, com comprimentos de onda iguais a 440 nm e na região do vermelho, com comprimento de onda de 675 nm. Já a clorofila b apresenta uma banda de absorção com comprimento de onda de 453 nm na região do azul-violeta e outra banda de absorção com comprimento de onda

de 675 nm na região do vermelho, apresentando coloração verde-amarelada (RABINOWITCH; GOVINDJEE, 1969).

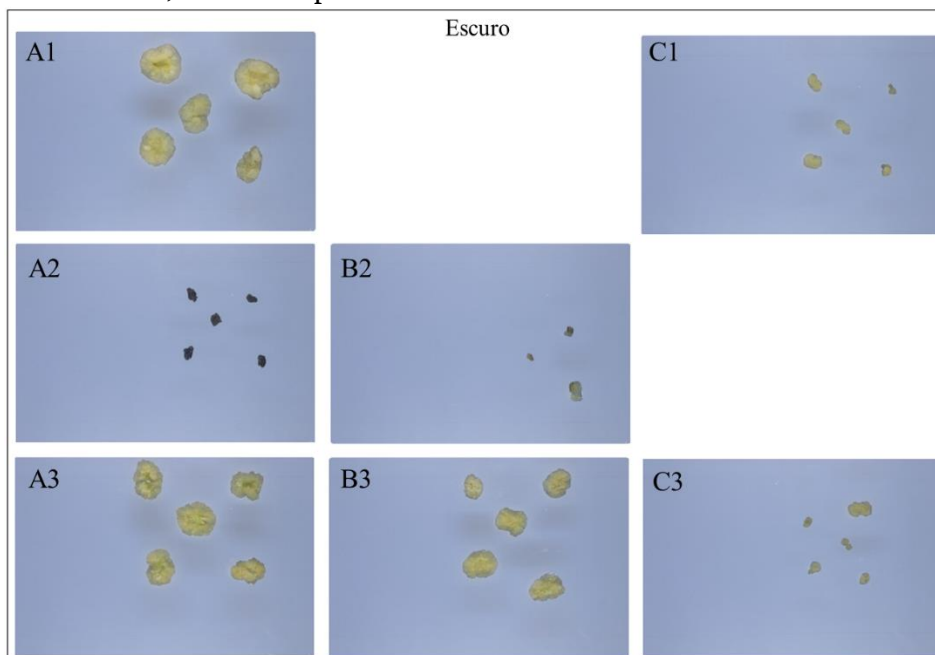
Figura 3 - Imagens obtidas pelo equipamento GroundEye para análise de imagem das amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas por 45 dias.



A: calos de explantes obtidos de folha, B: calos de explantes obtidos de caule, C: calos de explantes obtidos de raiz. 1: calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 1 mg L⁻¹ de ANA (ácido naftalenoacético) e 10 mg L⁻¹ de BAP (6-Benzylaminopurine), 2: calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 3 mg L⁻¹ de 2,4D (ácido diclorofenoxiacético), 3: calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 2 mg L⁻¹ de ANA mais 2 mg L⁻¹ de KIN (cinetina).

Fonte: Da autora (2021).

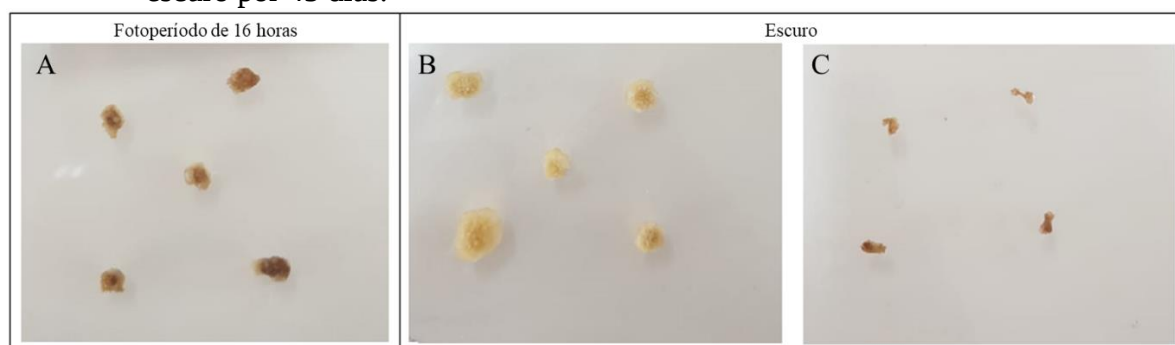
Figura 4 - Imagens obtidas pelo equipamento GroundEye para análise de imagem das amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, no escuro por 45 dias.



A: calos de explantes obtidos de folha, B: calos de explantes obtidos de caule, C: calos de explantes obtidos de raiz. 1: calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 1 mg L⁻¹ de ANA (ácido naftalenoacético) e 10 mg L⁻¹ de BAP (6-Benzylaminopurine), 2: calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 3 mg L⁻¹ de 2,4D (ácido diclorofenoxiacético), 3: calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 2 mg L⁻¹ de ANA mais 2 mg L⁻¹ de KIN (cinetina).

Fonte: Da autora (2021).

Figura 5 - Imagens obtidas pelo celular das amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP e 2,4D, sob fotoperíodo de 16 horas e no escuro por 45 dias.



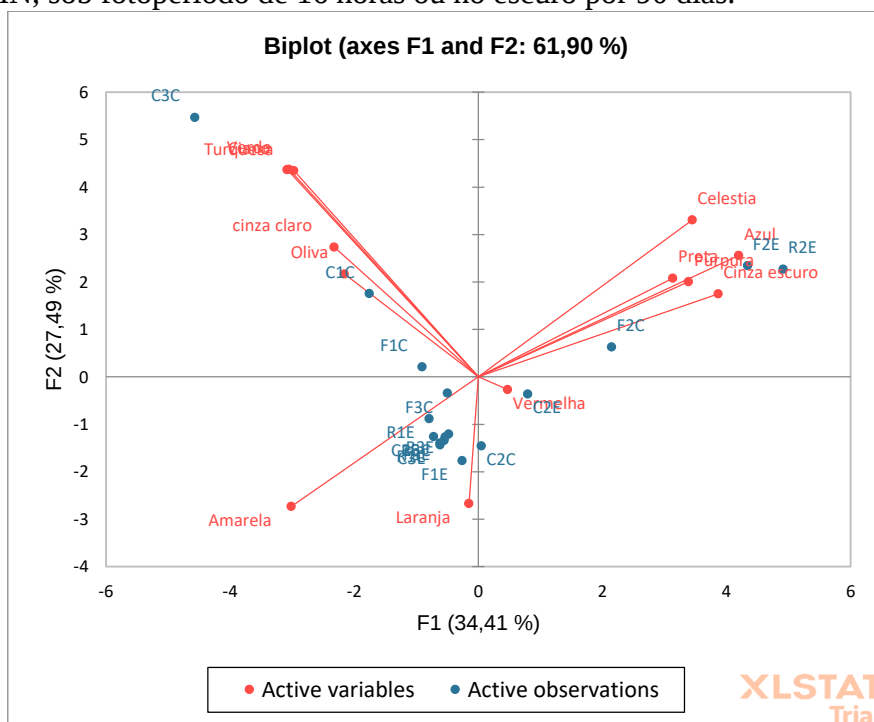
A: calos de explantes obtidos da folha desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 3 mg L⁻¹ de 2,4D (ácido diclorofenoxiacético), B: calos de explantes de caule desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 1 mg L⁻¹ de ANA (ácido naftalenoacético) e 10 mg L⁻¹ de BAP (6-Benzylaminopurine), C: calos de explantes de raiz desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 2 mg L⁻¹ de ANA mais 2 mg L⁻¹ de KIN (cinetina).

Fonte: Da autora (2021).

Aos noventa dias de desenvolvimento, observa-se que todos os tratamentos com a presença de do regulador de crescimento 2,4D no meio de cultura, independentemente da parte

da planta em que o explante foi obtido ou do ambiente em que se desenvolveu, tendem a apresentar uma coloração mais escura, representada pelo laranja, vermelho, cinza escuro, púrpura, azul, preto e celestial. Em especial, os calos de folha conduzidos no claro e da raiz no escuro se opõem aos demais, apresentando esta característica de forma mais evidente.

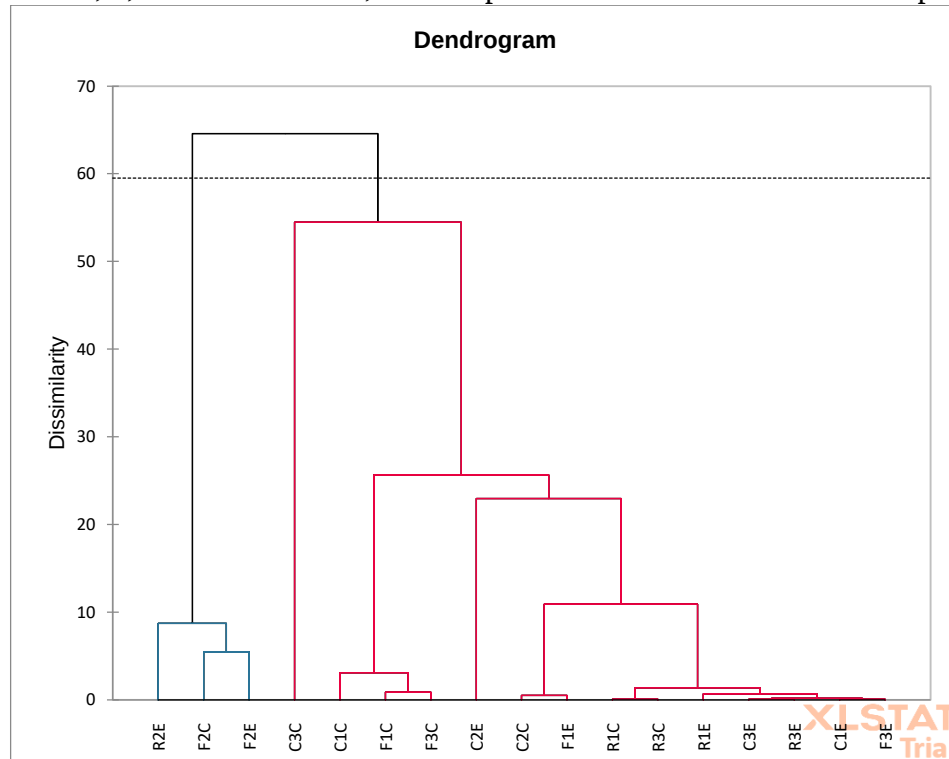
Figura 6 - Projeção bidimensional e pontuação das características de cor em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas ou no escuro por 90 dias.



Fonte: Da autora (2021).

O dendrograma apresenta o agrupamento destes tratamentos, apresentando dissimilaridade com os demais tratamentos, também agrupados, representando a diferença dos valores obtidos pela análise de imagem.

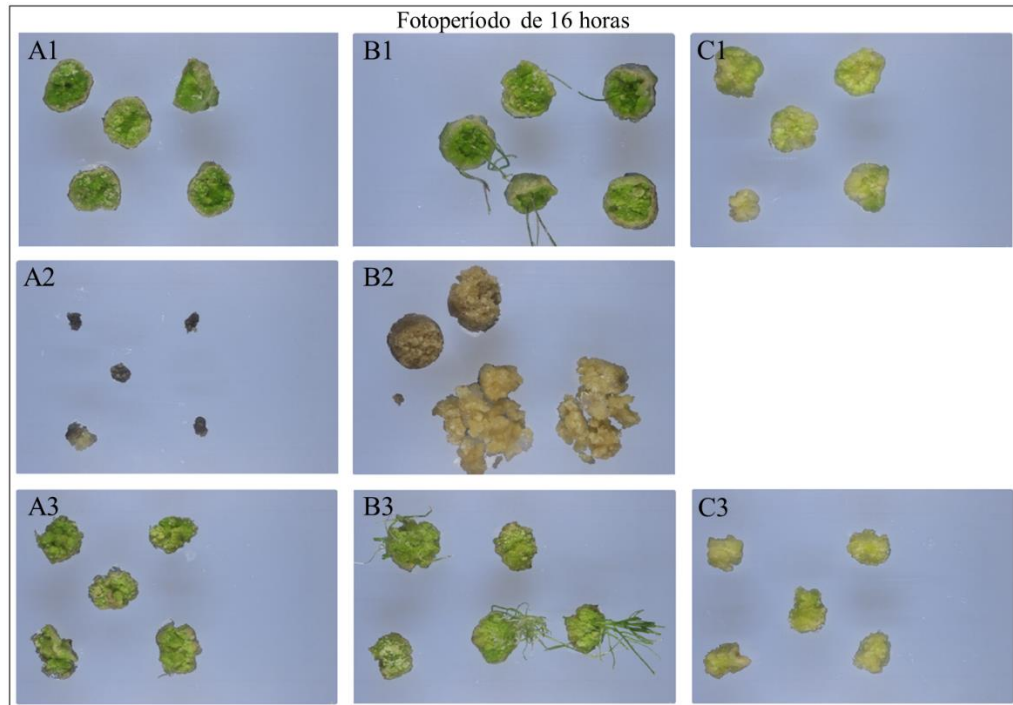
Figura 7 - Análise hierárquica de agrupamento (HCA) das características de cor em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas ou no escuro por 45 dias.



Fonte: Da autora (2021).

As Figuras 8 e 9 representam as imagens capturadas pelo GroundEye dos calos depois de 90 dias de desenvolvimento. Observa-se a similaridade dos calos das imagens A2 (FIGURA 8), A2 e C2 (FIGURA 9), possibilitando a visualização dos dados apresentados nas Figuras 6 e 7.

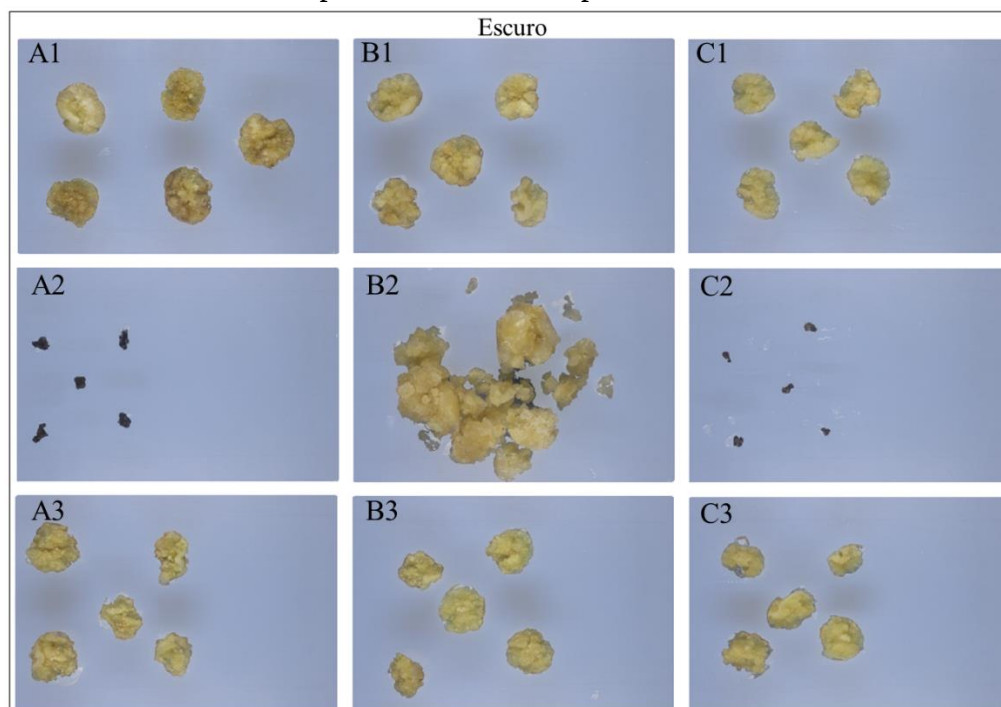
Figura 8 - Imagens obtidas pelo equipamento GroundEye para análise de imagem das amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas por 90 dias.



A: calos de explantes obtidos de folha, B: calos de explantes obtidos de caule, C: calos de explantes obtidos de raiz. 1: calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 1 mg L⁻¹ de ANA (ácido naftalenoacético) e 10 mg L⁻¹ de BAP (6-Benzylaminopurine), 2: calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 3 mg L⁻¹ de 2,4D (ácido diclorofenoxiacético), 3: calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 2 mg L⁻¹ de ANA mais 2 mg L⁻¹ de KIN (cinetina).

Fonte: Da autora (2021).

Figura 9 - Imagens obtidas pelo equipamento GroundEye para análise de imagem das amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas por 90 dias.



A: calos de explantes obtidos de folha, B: calos de explantes obtidos de caule, C: calos de explantes obtidos de raiz. 1: calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 1 mg L^{-1} de ANA (ácido naftalenoacético) e 10 mg L^{-1} de BAP (6-Benzylaminopurine), 2: calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 3 mg L^{-1} de 2,4D (ácido diclorofenoxiacético), 3: calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 2 mg L^{-1} de ANA mais 2 mg L^{-1} de KIN (cinetina).

Fonte: Da autora (2021).

3.5.2 Geometria

Na análise de variância, quando todos os tratamentos são comparados, existiu diferença estatística entre a maioria deles. A Tabela 5 mostra que calos de explantes obtidos do caule, com 90 dias de desenvolvimento sob fotoperíodo de 16 horas, possuem maior área que os demais, independentemente do regulador de crescimento utilizado no meio de cultura. O maior diâmetro máximo e o maior valor de perímetro foram atribuídos aos calos de explantes do caule, desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas por 90 dias.

A Tabela 5 indica que, geralmente, calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP apresentam menor circularidade, ou seja, não apresentam uma característica circular, tanto para explantes de folha, caule ou raiz desenvolvidos sob presença de luz ou não. Observa-se também, que calos de explantes obtidos do caule, desenvolvidos em

meio de cultura suplementado com ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas, por 90 dias, apresentam valor alto de esfericidade, ou seja, fisicamente, sua forma se assemelha a uma esfera.

Tabela 5 - Valores médios de área (cm²), circularidade, esfericidade, diâmetro máximo (cm), diâmetro mínimo (cm) e perímetro (cm) das amostras de de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce cultivar Brazlândia Branca, desenvolvidos em ambiente com fotoperíodo de 16 horas e no escuro por 45 dias e 90 dias.

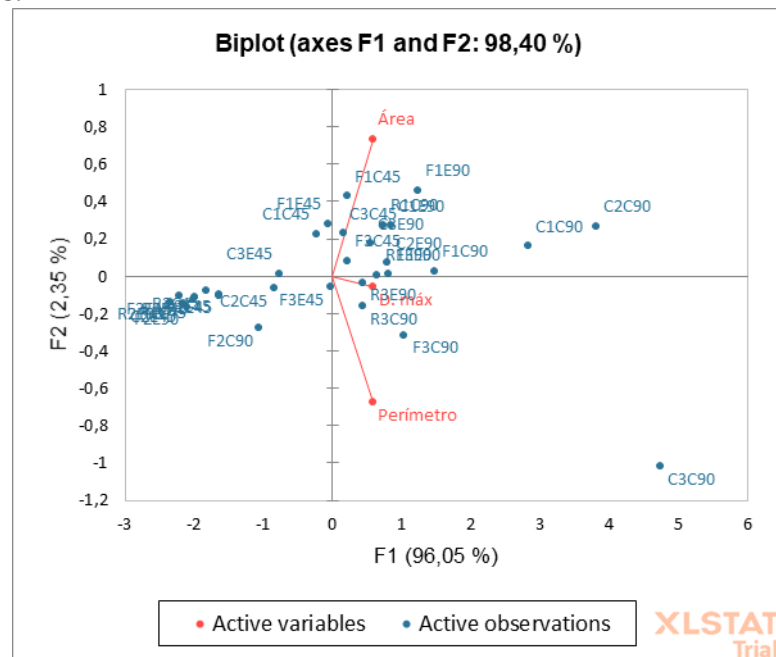
Tratamento	Área	Circularidade	Esfericidade	Diâmetro máximo	Diâmetro mínimo	Perímetro
C1C45	1,9 b	0,86 a	20,64 d	1,65 c	1,4 c	6,22 d
C2C45	1,25 c	0,7 b	39,81 c	1,26 d	1,71 a	5,89 d
C3C45	2,18 b	0,81 a	25,32 d	1,84 c	1,46 b	7,31 d
C2E45	0,2 c	0,63 b	27,22 d	0,6 d	0,32 e	2,32 e
C3E45	1,28 c	0,8 a	23,93 d	1,41 d	1,04 c	5,33 e
F1C45	2,37 b	0,81 a	17,97 d	1,93 c	1,52 a	6,51 d
F3C45	2,06 b	0,73 a	32,17 d	1,91 c	1,27 c	7,91 d
F1E45	2,02 b	0,79 a	19,68 d	1,8 c	1,38 b	6,23 d
F2E45	0,17 c	0,59 b	20,26 d	0,61 d	0,35 e	1,85 e
F3E45	1,78 b	0,74 a	36,79 d	1,75 c	1,21 c	7,9 d
R1C45	0,31 c	0,69 a	22,6 d	0,71 d	0,49 e	2,57 e
R2C45	0,46 c	0,66 b	24,18 d	0,84 d	0,54 d	2,8 e
R3C45	0,57 c	0,72 a	21,8 d	0,93 d	0,63 d	3,35 e
R1E45	0,56 c	0,7 a	22,59 d	0,94 d	0,62 d	3,36 e
R3E45	0,31 c	0,64 b	20,56 d	0,76 d	0,41 e	2,42 e
C1C90	4,19 a	0,71 a	67,28 c	3,01 b	1,78 a	16,0 c
C2C90	5,41 a	0,69 a	84,79 b	2,97 b	1,71 a	20,53 b
C3C90	4,41 a	0,48 b	156,21 a	4,06 a	1,39 b	25,72 a
C1E90	2,75 b	0,77 a	48,59 c	2,15 c	1,57 a	9,31 d
C2E90	2,92 b	0,58 b	94,38 b	1,6 c	0,62 d	11,94 c
C3E90	2,46 b	0,8 a	33,11 d	1,97 c	1,54 a	8,89 d
F1C90	3,16 b	0,82 a	54,20 c	2,22 c	1,75 a	13,0 c
F2C90	0,84 c	0,62 b	55,54 c	1,21 d	0,7 d	5,81 d
F3C90	2,45 b	0,72 a	66,28 c	2,1 c	1,4 b	12,67 c
F1E90	3,27 b	0,81 a	31,58 d	2,26 c	1,72 a	10,03 d
F2E90	0,21 c	0,65 b	30,51 d	0,65 d	0,4 e	2,47 e
F3E90	2,65 b	0,76 a	48,68 c	1,91 c	1,47 b	11,07 d
R1C90	2,7 b	0,8 a	31,42 d	2,07 c	1,63 a	9,12 d
R3C90	2,06 b	0,72 a	48,91 c	1,92 c	1,21 c	9,84 d
R1E90	2,4 b	0,78 a	42,79 c	1,99 c	1,44 b	9,96 d
R2E90	0,11 c	0,62 b	34,32 d	0,48 d	0,23 e	1,91 e
R3E90	2,19 b	0,72 a	43,12 c	1,91 c	1,35 b	9,41 d
CV (%)	36,62	8,79	31,18	19,26	11,42	29,96
Média geral	1,92	0,71	42,1	1,68	1,1	8,11

As médias seguidas de mesma letra não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

De acordo com a análise de componentes principais (PCA), que explica 98,40% das variações dos dados de área, diâmetro máximo e perímetro, representada na figura 10, a maioria das amostras de calos desenvolvidos por 45 dias (exceto para os calos de explantes da folha desenvolvidos em meio de cultura com ANA + BAP no claro e calos de explantes do caule e de raiz desenvolvidos em meio de cultura com ANA + KIN no claro) apresentaram menor afinidade para as análises de área, diâmetro máximo e perímetro, ou seja, são calos menores que os demais. Dentre os calos maiores estão a maioria daqueles desenvolvidos por 90 dias, exceto os calos de explantes de folha desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 2,4D no claro e calos de explantes de folha e raiz desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 2,4D no escuro.

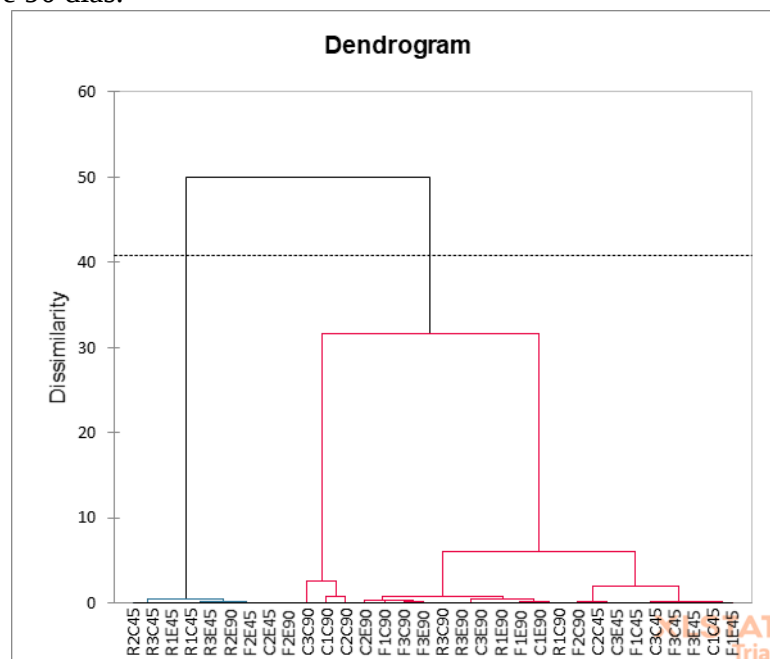
Figura 10 - Projeção bidimensional e pontuação das características geométricas em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas ou no escuro por 45 e 90 dias.



Fonte: Da autora (2021).

É importante notar que as amostras desenvolvidas por 45 dias que apresentaram maiores valores de área, diâmetro máximo e perímetro, com 90 dias, o mesmo tratamento proporciona, ainda, maiores valores de área diâmetro e perímetro. Isso pode ser observado através da análise hierárquica de agrupamento (HCA) na Figura 11.

Figura 11 - Análise hierárquica de agrupamento (HCA) das características geométricas em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz de batata-doce cultivar Brazlândia Branca desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP, 2,4D e ANA + KIN, sob fotoperíodo de 16 horas ou no escuro por 45 e 90 dias.



Fonte: Da autora (2021).

É possível visualizar essas características de tamanho pelas imagens representadas nas Figuras 3, 4, 5, 8 e 9. Observa-se que o meio de cultura suplementado com 2,4D proporciona o desenvolvimento de calos friáveis. São calos que se desagregam com facilidade, benéficos para a suspensão de células, pois aceleram a multiplicação celular (FLORES, 2006). A friabilidade também permite a obtenção de material mais adequado para a seleção de linhagens produtoras de metabólitos *in vitro*, no entanto, apresentam maiores variações por conta da alta taxa de divisão, sendo geneticamente instáveis (RIBEIRO, 2004). O restante das amostras apresentou calos mais compactos.

4 CONCLUSÃO

Para a indução de calos em explantes de folha, caule e raiz de batata-doce, cultivar Brazlândia Branca, recomenda-se suplementar o meio de cultura com reguladores de crescimento e desenvolver os explantes por 90 dias para obter maior massa de calos, considerando os resultados obtidos para a avaliação da porcentagem do ganho de massa de calos entre 45 e 90 dias. Aos 90 dias, a composição do meio de cultura, o ambiente e a fonte de explante interferiram no desenvolvimento dos calos, apresentando resultados distintos

dependendo de cada fator estudado. Portanto, para explantes da folha, o meio de cultura suplementado com 2 mg L^{-1} de ANA + 2 mg L^{-1} de KIN, se mostrou mais eficiente para a indução e desenvolvimento de calos, nos explantes de caule foi o meio de cultura suplementado com 3 mg L^{-1} de 2,4D sob fotoperíodo de 16 horas e para explantes de raiz, o meio de cultura suplementado com 1 mg L^{-1} de ANA + 10 mg L^{-1} de BAP se mostrou mais eficiente.

Considerando as imagens capturadas pelo GroundEye, os calos desenvolvidos em meio de cultura contendo 2,4D apresentam friabilidade e coloração amarela mesmo quando conduzidos em ambiente claro. Já os calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com ANA + BAP ou ANA + KIN são compactos e, quando submetidos a luz, apresentam coloração verde. Avaliar as características morfoanatômicas dos calos através do equipamento de captura e análise de imagem GroundEye pode ser uma forma prática e precisa para se obter informações importantes sobre a coloração e geometria dos calos, contribuindo com pesquisas na área de cultura de tecidos vegetais.

REFERÊNCIAS

- ABUBAKAR, A. S. *et al.* In vitro propagation of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) cultivars. **Agricultural Science Digest**, [S.l.], v. 38, n. 1, p. 17-21, 2018.
- ADDAE-FRIMPOMAAH, F. *et al.* Regeneration of three sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.)) accessions in Ghana via, meristem and nodal culture. **International Journal of Plant Breeding and Genetics**, [S.l.], v. 8, n. 3, p. 121-138, 2014.
- DA SILVA, G. O.; VENDRAME, L. P de C.; AMARO, G. B. **Desempenho de clones de batata-doce para caracteres de rendimento e qualidade de raiz**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2019.
- DEWIR, Y. H. *et al.* Optimization of media formulation for axillary shoot multiplication of the red-peeled sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam.) 'Abees'. **Chil. J. Agric. Res.**, Chillán, v. 80, n. 1, p. 3-10, marzo. 2020.
- DHARMAPAL, S.; NAJLA, M.; SWETHA, E. S. Callus induction and organogenesis from *Tinospora formanii* Udayan and Pradeep: A rare endemic plant. **Tropical Plant Research**, [S.l.], v. 4, n. 1, p. 71-6, 2017.
- DIN, N. U. *et al.* Relationship of light intensity and quality with callus biomass and antioxidant potential in *Ajuga bracteosa*. **Int. J. Biosci.**, [S.l.], v. 15, n. 1, p. 506-516, July 2019.
- ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Ação da 6- benzilaminopurina e da qualidade da luz na multiplicação in vitro de macieira. *Malus doméstica* Borkh. CVS. Galaxy e Master Gala. **Revista Brasileira de Agrociência**, [S.l.], v. 12, n. 2, p. 151-155, 2006.
- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Statistics Division**. Sweet Potatoes, 2020.
- FLORES, R. **Cultura de tecidos e produção de B-ecdisona em *Pfaffia glomerata* e *Pfaffiatuberosa* (Amaranthaceae)**. 2006. 168 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.
- FURLANETO, F. P. B; FIRETTI, R; MONTES, S. M. N. M. Comercialização, custos e indicadores de rentabilidade da batata-doce. 2012. **Pesquisa & Tecnologia**, [S.l.], v. 9, n. 2, jul./dez 2012.
- GUPTA, S. K. *et al.* Effect of light intensity on in vitro multiple shoot induction and regeneration of cotton (*Gossypium hirsutum* L. cv Khandawa-2). **Indian J Exp Biol.**, [S.l.], v. 38, n. 4, p. 399-401, Apr. 2000.
- KHAN, T. *et al.* Differential effects of thidiazuron on production of anticancer phenolic compounds in callus cultures of *Fagonia indica*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [S.l.], v. 179, n. 1, p. 46-58, 2016.
- PEDROSA, C. E. *et al.* Yield and quality of wilted sweet potato vines and its silages. **Horticultura Brasileira**, [S.l.], v. 33, n. 3, p. 283-289, 2015.

PIERIK, R. L. M. *et al.* Cultivo in vitro de las plantas superiores. **Sci. Agric.**, Piracicaba, v. 57, n. 2, jun. 2000.

PORTO, K. O. *et al.* Estimulação e seleção em calos de *Byrsonima gardneriana* A. Juss. para produção de antocianinas. **Brazilian Journal of Development**, [S.l.], v. 6, n. 12, p. 96499-96513, 2020.

RABINOWITCH, E.; GOVINDJEE, G. **Photosynthesis**. NY: John Wiley and Sons Inc., 1969. 273 p.

RIBEIRO, I. G. **Estabelecimento da cultura de calos de *Cleome spinosa* Jacq. (Capparaceae)**. 2004. 71 p. (Trabalho de conclusão de curso) - Universidade do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2004.

SHAIBU, A. S. *et al.* Media optimization and effect of surface sterilization timing on *in vitro* propagation of sweet potato. In: Proc. 2nd Int. Conf. on Drylands. 2016.

SUNARYO, W.; DARNANINGSIH, D.; NURHASANAH, N. Selection and regeneration of purple sweet potato calli against drought stress simulated by polyethylene glycol F1000. **Research**, [S.l.], v. 8, n. 10, p. 10, 2019.

THORPE, T. A. Morphogenesis and regeneration. In: **Plant cell and tissue culture**. Dordrecht: Springer, 1994. p. 17-36.

YOSHINAGA, M.; KOMAKI, K. **Formation of calli and adventitious roots from mesophyll-and embryogenic callus-derived protoplasts of sweetpotato, *Ipomoea batatas* (L.) Lam.** Japan: Bulletin of the Kyushu National Agricultural Experiment Station, 1993.

ARTIGO 2 COMPOSTOS BIOATIVOS EM CALOS DE BATATA-DOCE DE POLPA ROXA E LARANJA

RESUMO

A batata-doce é muito explorada no Brasil e tem alta importância econômica e social, consequente da facilidade de cultivo, grande adaptação climática e ampla variabilidade genética. Há um interesse crescente por cultivares de polpa colorida, por suas características nutricionais benéficas e concentração de metabólitos secundários que causam benefícios à saúde humana. A cultura de calos pode ser um sistema efetivo para a produção desses metabólitos secundários maximizando a produção desses compostos com o uso de elicitores no meio de cultura. Com isso, objetivou-se analisar a composição bioquímica de plantas *ex vitro* e calos induzidos em meios de cultura com níveis crescentes de sacarose, provenientes de explantes de folha, caule e raiz de batata-doce de polpa roxa e laranja. Para isso, os explantes de batata-doce de polpa roxa, genótipo 2018-72-1407, e de polpa laranja, cultivar Beauregard, foram inoculados em meios de cultura suplementados com 30 mg L⁻¹, 60 mg L⁻¹ e 120 mg L⁻¹ de sacarose. Também foram avaliados folhas, caules e raízes de plantas de batata-doce roxa e laranja, cultivadas no campo, para comparação dos tratamentos. A caracterização de cor e geometria dos calos foi realizada pelo sistema GroundEye. Os resultados mostraram que níveis maiores de sacarose no meio de cultura podem potencializar a produção de compostos bioativos em qualquer um dos explantes inoculados, apesar de reduzir o desenvolvimento dos calos, como observado pelo resultado da massa de calos e pela avaliação da geometria dos calos.

Palavras-chave: *Ipomoea batatas*. Metabólitos secundários. Cultura de tecidos.

ABSTRACT

Sweet potato is widely exploited in Brazil and has high economic and social importance, as a result of its ease of cultivation, great climatic adaptation and wide genetic variability. There is a growing interest in colored pulp cultivars, for their beneficial nutritional characteristics and concentration of secondary metabolites that cause benefits to human health. Callus culture can be an effective system for the production of these secondary metabolites, maximizing the production of these compounds with the use of elicitors in the culture medium. Thus, the objective was to analyze the biochemical composition of *ex vitro* plants and calluses induced in culture media with increasing levels of sucrose, from leaf, stem and root explants of purple and orange pulp sweet potato. For this purpose, explants of sweet potato with purple pulp, genotype 2018-72-1407, and orange pulp, cultivar Beauregard, were inoculated in culture media supplemented with 30 mg L⁻¹, 60 mg L⁻¹ and 120 mg L⁻¹ of sucrose. Leaves, stems and roots of purple and orange sweet potato plants grown in the field were also evaluated for comparison of treatments. The color and geometry characterization of the calluses was performed by the GroundEye system. The results showed that higher levels of sucrose in the culture medium can enhance the production of bioactive compounds in any of the inoculated explants, despite reducing callus development, as observed by the callus mass result and the evaluation of callus geometry.

Keywords: *Ipomoea-batatas*. Secondary metabolites. Tissue culture.

1 INTRODUÇÃO

A batata-doce é muito explorada no Brasil e tem alta importância econômica e social, consequente da facilidade de cultivo, grande adaptação climática e ampla variabilidade genética (EMBRAPA, 2019). Em Santa Catarina, é produzido, anualmente, 17.747 toneladas em 988 hectares (IBGE, 2019) e, apesar de não estar entre os maiores produtores do país, apresenta grande importância econômica, movimentando milhões de reais (EMBRAPA, 2019). No Rio Grande do Sul, 11.988 hectares de área plantada são destinados à produção de batata-doce, sendo o estado de maior produção de batata-doce, com 175.041 toneladas (IBGE, 2019). É um dos alimentos mais consumidos pelo homem, além de ser utilizado na nutrição animal e considerado um alimento promissor para atender as necessidades nutricionais entre populações mais carentes nutricionalmente (KEHOE *et al.*, 2015).

Nota-se alta diversidade genética em batata-doce nas variadas regiões produtoras do Brasil, provenientes de segregação assexuada e sexuada. Suas variedades se diferem na forma, cor interna e externa, sabor, textura da raiz tuberosa, tamanho, formato, cor de suas folhas e flores (FURLANETO *et al.*, 2012). As variadas cores das polpas de batata-doce podem ser um indicador de quantidade de β -caroteno, antocianinas, compostos fenólicos, fibra dietética, ácido ascórbico, ácido fenólico e, também, sais minerais (WOOLFE, 2008). Há interesse crescente por cultivares de polpa colorida, justamente por essa característica nutricional benéfica e concentração de metabólitos secundários que causam benefícios à saúde humana (CAMIRE *et al.*, 2009).

Os metabólitos secundários possuem grande importância econômica, já que são muito utilizados na fitomedicina, com o uso de remédios naturais produzidos através de extratos vegetais, e na nutracêutica, utilizando alimentos funcionais, com benefícios à saúde humana, para prevenir doenças graves. Também são muito utilizados pelas indústrias de cosméticos, como princípios ativos contra o envelhecimento através dos compostos antioxidante, utilização de fragrâncias, na indústria alimentícia com o uso de corantes naturais, conservantes e substâncias para dar sabor e cheiro agradável, dentre outras diversas aplicações industriais (PERES, 2004).

Espécies que possuem a capacidade de produzir esses compostos bioativos são obtidas indiscriminadamente. Por isso, há alguns anos, estudos vêm sendo realizados na área de cultura de tecidos para a produção desses compostos *in vitro*, sendo vantajoso tanto do ponto de vista ecológico quanto tecnológico.

Muitas estratégias são utilizadas para se aumentar a produtividade de metabólitos secundários vegetais *in vitro*, como a adição de compostos precursores ao meio de cultivo (SILVESTRINI *et al.*, 2002), a elicitação (WANG; ZHONG, 2002) e a transformação genética usando o sistema de vetor natural mediado por *Agrobacterium rhizogenes* ou *A. tumefaciens* (GIRI; NARASU, 2000). A cultura de calos pode ser um sistema efetivo para a produção de metabólitos secundários específicos. Além disso, a produção desses compostos pode ser maximizada com o uso de elicitores no meio de cultura (NAMDEO *et al.*, 2007). Alguns desses elicitores são ácido salicílico, extratos, sacarose (SEIDEL *et al.*, 2002, NAIK *et al.*, 2016, RUBINOVICH *et al.*, 2019) que podem causar estresse ao vegetal e aumentar a produção de compostos para sua defesa (FAZAL *et al.*, 2016).

Sendo assim, objetivou-se avaliar a composição bioquímica de calos de explantes de folha, caule e raiz de batata-doce de polpa roxa e alaranjada desenvolvidos em meios de cultura suplementados com níveis crescentes de sacarose.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal, estabelecimento e multiplicação

Foram utilizadas batata-doce de polpa roxa, genótipo 2018-72-1407 e batata-doce de polpa laranja, cultivar comercial Beauregard. A batata-doce roxa estava se desenvolvendo no Centro de Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia (CDTT) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), localizado na fazenda Palmital, no município de Ijaci, Minas Gerais. O material vegetal foi colhido com 150 dias, levado para o Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Lavras (UFLA), para limpeza, desinfestação e estabelecimento *in vitro*.

As brotações mais novas da planta de batata-doce roxa, genótipo 2018-71-2014, foram retiradas e lavadas em água corrente. A batata roxa foi estabelecida *in vitro* pela cultura de meristemas. Para isso, os brotos apicais foram imersos em álcool 70% por 30 segundos, em seguida, imersos por 5 minutos em hipoclorito de sódio 7% e, logo após, lavados por cinco vezes consecutivas em água destilada e autoclavada. Em seguida, os explantes foram obtidos retirando o meristema apical das brotações assépticas.

Os explantes meristemáticos foram então, estabelecidos em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), contendo 30 mg L⁻¹ de sacarose, 6 mg L⁻¹ de ágar, com pH ajustado para 5,8, em tubos com 15 ml de meio nutritivo, vedados com plástico filme

transparente. Foram desenvolvidos em sala de crescimento sob temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 16 horas. Depois de 30 dias, foi feita a repicagem desse material, em tubos contendo 15 ml de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), com 60 mg L⁻¹ de sacaros, 6mg L⁻¹ de ágar e pH ajustado para 5,8. Seu desenvolvimento também foi em sala de crescimento a 25 °C de temperatura e fotoperíodo de 16 horas.

A cultivar de batata-doce Beauregard, já estabelecida no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Lavras (UFLA) em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), foram repicadas, também em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), com 60 mg L⁻¹ de sacarose e 6 mg L⁻¹ de ágar, com pH ajustado para 5,8. Os explantes foram inoculados em tubos contendo 15 mL da solução nutritiva, vedadas com plástico filme transparente e levados para a sala de crescimento, sob temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 16 horas.

2.2 Obtenção dos explantes e meio de cultura para a indução dos calos

Os explantes foram obtidos das folhas, caules e raízes das plantas estabelecidas *in vitro* depois de 45 dias de desenvolvimento. Os explantes das folhas possuíam 25 mm² e foram extraídos de folhas coletadas de forma aleatória, retirando-se a nervura central. Os explantes dos caules, também obtidos de forma aleatória, possuíam 1 mm de altura, sendo colocados no meio de cultivo de modo que uma das faces cortadas estivesse em contato com o meio e a outra face cortada, voltada para cima. Os explantes obtidos das raízes, foram coletados de forma aleatória, cortando 5 mm de comprimento da raiz e inoculando-os na horizontal no meio de cultivo.

Os explantes foram inoculados em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), com 6 mg L⁻¹ de ágar, pH ajustado para 5,8 e suplementados com 1 mg L⁻¹ de ANA e 10 mg L⁻¹ de BAP, para induzir a formação de calos. As concentrações de sacarose variaram de acordo com o tratamento, sendo três concentrações, 30 mg L⁻¹, 60 mg L⁻¹ e 120 mg L⁻¹ de sacarose. Os explantes foram inoculados em frascos contendo 30 ml de solução nutritiva, vedados com plástico filme transparente, sendo, para a indução de formação de calos nas folhas e nos caules, inoculados sete explantes em cada frasco e, para as raízes, dez explantes em cada frasco. Para cada tratamento haviam 24 frascos, sendo divididos em três repetições de oito frascos. Os frascos foram mantidos em sala de crescimento, sob temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 16 horas.

Após 90 dias de formação e desenvolvimento, os calos foram coletados e congelados inicialmente em nitrogênio líquido e depois mantidos em congelador a -18 °C para a realização das análises.

2.3 Análises quantitativas

2.3.1 Massa de calos

Após 90 dias, os calos foram pesados em balança de precisão para avaliar seu desenvolvimento nos meios de cultura com diferentes concentrações de sacarose.

2.3.2 Determinação dos fenólicos totais

A análise de fenólicos totais foi feita pelo Método de FolinCiocalteu, segundo Whaterhouse (2002). O extrato foi obtido pesando 2,5 g de calo, adicionou-se 20 ml de solução de 70% de metanol e 30% de água destilada à amostra pesada, triturando-a na solução. Após trituração, a solução contendo a amostra foi levada para o banho ultrassônico por uma hora em temperatura ambiente. Após o banho, a solução foi filtrada em filtro de papel, obtendo o extrato das amostras de calos.

Para a curva padrão, foi feita uma solução de 1 mg mL⁻¹ de ácido gálico em água destilada. A solução foi diluída 8 vezes em triplicata e pipetada 30 µL no poço da microplaca. Em seguida pipetou-se 120 µL da solução reagente de FolinCiocalteu 10% e 150 µL de solução de carbonato de sódio 10% no mesmo poço, completando um volume de 300 µL.

Da mesma forma 30 µL do extrato foi pipetado na microplaca, adicionando em seguida no mesmo poço 120 µL da solução reagente de FolinCiocalteu 10% e 150 µL de solução de carbonato de sódio 10%, completando um volume de 300 µL. A leitura foi feita em espectrofotômetro depois de duas horas de repouso ao abrigo da luz, a 720 nm. Os fenólicos foram quantificados em equivalentes de ácido gálico em 100 g de amostra, substituindo o y obtido da equação da curva padrão pelo valor da absorbância obtida na leitura.

2.3.3 Determinação dos flavonoides totais

O conteúdo de flavonoides totais foi determinado segundo a metodologia descrita por Popova *et al.* (2007). O extrato foi obtido pesando 2,5 g de calo ou partes das plantas cultivadas

no campo, adicionou-se 20 ml de solução de 70% de metanol e 30% de água destilada à amostra pesada e triturou-se a amostra na solução. Após trituração, a solução contendo a amostra foi levada para o banho ultrassônico por uma hora em temperatura ambiente. Após o banho, a solução foi filtrada em filtro de papel, obtendo o extrato das amostras de calos e partes das plantas.

A curva padrão foi obtida pelas diluições da solução de quercetina em triplicata, iniciando a uma concentração de $1,5 \text{ mg mL}^{-1}$. Pipetou-se 100 μL da solução de quercetina no poço da microplaca mais 100 μL de solução de cloreto de alumínio 10% (2,5 g de AlCl_3 em 25 mL de metanol 70%), completando um volume de 200 μL no poço da microplaca.

Dessa mesma forma, pipetou-se 100 μL do extrato das amostras de calos mais 100 μL da solução de cloreto de alumínio 10% no poço da microplaca. Também, foi feito o branco amostra, pipetando 100 μL do extrato das amostras mais 100 μL do solvente (metanol 70%). A leitura foi feita em espectrofotômetro depois de 40 minutos de repouso no escuro a 420 nm. Os flavonoides foram quantificados em equivalentes de quercetina em 100 g de amostra, substituindo o y obtido da equação da curva padrão pelo valor da absorbância obtida na leitura.

2.3.4 Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante das amostras de calos foi quantificada pelo método de redução pelo complexo de fosfomolibdênio, segundo a metodologia de Prieto *et al.* (1999). O extrato foi obtido pesando 2,5 g de calo, adicionou-se 20 ml de solução de 70% de metanol e 30% de água destilada à amostra pesada e triturou a amostra na solução. Após trituração, a solução contendo a amostra foi levada para o banho ultrassônico por uma hora em temperatura ambiente. Após o banho a solução foi filtrada em filtro de papel, obtendo o extrato das amostras de calos.

A curva padrão foi obtida pelas diluições da solução de ácido ascórbico em triplicata, iniciando a uma concentração de 500 mg mL^{-1} . Pipetou-se 100 μL da solução de ácido ascórbico no poço da microplaca mais 750 μL do reativo fosfomolibdico (mistura de H_2SO_4 0,6M, Fosfato de Sódio Monobásico e Molibdato de Amônio 4mM) completando um volume de 850 μL em tubo de Falcon.

Da mesma maneira, 100 μL do extrato das amostras foram pipetados em tubo de Falcon mais 750 μL do reativo fosfomolibdico. Os tubos de Falcon com as soluções mais os extratos foram levados para o banho maria a 95°C por 1 hora e 30 minutos. Após retirar do banho maria, esperou-se resfriar e pipetou-se 200 μL no poço da micro placa e a leitura foi feita em 695 nm.

A capacidade antioxidante da amostra foi calculada substituindo o y da equação da curva padrão pela absorbância das amostras, resultando na equivalência da capacidade antioxidante do ácido ascórbico em 100 g de amostra.

2.3.5 Determinação das antocianinas totais

As antocianinas totais foram quantificadas pelo método de diferença de pH segundo a metodologia de Giusti e Wrolstad (2001). Primeiramente, preparou-se o tampão de cloreto 0,025 mol L⁻¹, com pH ajustado para 1, e o tampão de acetato 0,4 mol L⁻¹, com pH ajustado para 4,5. Em seguida, os extratos das amostras foram obtidos adicionando 200 µL de etanol acidificado com HCl (0,1%) mais 20 µL de amostra diluída em metanol 70% (2,5 gramas de amostra em 20 ml de metanol) em um ependorf.

Para a determinação, foram adicionados nos poços de uma micro placa 75 µL de extrato da amostra mais 125 µL de tampão pH 1 e, em outra micro placa, 75 µL de extrato da amostra mais 125 µL de tampão pH 4,5. As micro placas ficaram em repouso por 30 minutos no escuro. A leitura foi realizada em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 510 nm e 700 nm, sendo que as leituras em 510 nm ficaram entre 0,1 e 1,2.

O valor de antocianina totais foi obtido pela Equação 1.

$$AT \text{ (mg em 100 g de amostra)} = (A \times PM \times FD / \epsilon \times 1) \times 100 \quad (1)$$

Onde:

A = (absorbância em 510nm – absorbância em 700nm)pH 1 – (absorbância em 510nm – absorbância em 700nm)pH 4,5

FD = fator de diluição

ε absortividade molar = 26900

PM cianidina 3-glicosídeo = 449,2

2.3.6 Determinação de sólidos solúveis (°Brix)

Foram determinados pelo índice de refração, conforme metodologia recomendada pela AOAC (2005). Para o extrato, foram pesados 2,5 gramas de cada amostra, diluídos em cinco ml de água destilada, trituradas e filtradas em filtro de pano. Em seguida, a leitura foi feita em refratômetro digital modelo Atago e os resultados foram expressos em °Brix (%).

2.3.7 Potencial hidrogeniônico (pH)

Foi determinado através do extrato aquoso contendo 2,5 gramas de cada amostra, diluídos em cinco ml de água destilada, trituradas e filtradas em filtro de pano. As leituras foram feitas em potenciômetro Micronal, modelo B221, conforme as normas do Instituto Adolfo Lutz.

2.4 Análise de imagem

A análise da coloração e geometria (área, circularidade, esfericidade, diâmetro máximo, diâmetro mínimo e perímetro) dos calos foi realizada pelo equipamento GroundEye®, composto por uma câmera de captação de imagem e um software de análise, no Laboratório de Sementes da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Foram analisadas três repetições por tratamento, sendo os tratamentos avaliados codificados como RF3 (amostras de calos de explantes da folha do genótipo 2018-72-1407 desenvolvidos em meio de cultura suplementados com 30 mg L⁻¹ de sacarose), RF6 (amostras de calos de explantes da folha do genótipo 2018-72-1407 desenvolvidos em meio de cultura suplementados com 60 mg L⁻¹ de sacarose), RC3 (amostras de calos de explantes do caule do genótipo 2018-72-1407 desenvolvidos em meio de cultura suplementados com 30 mg L⁻¹ de sacarose), RC6 (amostras de calos de explantes do caule do genótipo 2018-72-1407 desenvolvidos em meio de cultura suplementados com 60 mg L⁻¹ de sacarose), RR3 (amostras de calos de explantes da raiz do genótipo 2018-72-1407 desenvolvidos em meio de cultura suplementados com 30 mg L⁻¹ de sacarose), RR6 (amostras de calos de explantes da raiz do genótipo 2018-72-1407 desenvolvidos em meio de cultura suplementados com 60 mg L⁻¹ de sacarose), LF3 (amostras de calos de explantes da folha da cultivar Beauregard desenvolvidos em meio de cultura suplementados com 30 mg L⁻¹ de sacarose), LF6 (amostras de calos de explantes da folha da cultivar Beauregard desenvolvidos em meio de cultura suplementados com 60 mg L⁻¹ de sacarose), LC3 (amostras de calos de explantes do caule da cultivar Beauregard desenvolvidos em meio de cultura suplementados com 30 mg L⁻¹ de sacarose), LC6 (amostras de calos de explantes do caule da cultivar Beauregard desenvolvidos em meio de cultura suplementados com 60 mg L⁻¹ de sacarose), LR3 (amostras de calos de explantes da raiz da cultivar Beauregard desenvolvidos em meio de cultura suplementados com 30 mg L⁻¹ de sacarose), LR6 (amostras de calos de explantes da raiz da cultivar Beauregard desenvolvidos em meio de cultura suplementados com 60 mg L⁻¹ de sacarose), RC12 (amostras de calos de explantes do caule do genótipo 2018-72-1407 desenvolvidos em meio de cultura suplementados

com 120 mg L⁻¹ de sacarose) e LC12 (amostras de calos de explantes do caule da cultivar Beauregard desenvolvidos em meio de cultura suplementados com 120 mg L⁻¹ de sacarose).

Os calos foram colocados sobre a bandeja de acrílico transparente que é inserida na câmara de captação do equipamento para serem fotografadas. Após a coleta das imagens, o GroundEye forneceu relatórios com valores médios para cada descritores analisados.

2.4.1 Coloração

Para avaliar a coloração dos calos, foram observadas as seguintes características de cor: dominância preta, dominância azul, dominância celestial, dominância ciano, dominância cinza escuro, dominância verde, dominância magenta, dominância oliva, dominância laranja, dominância púrpura, dominância vermelha, dominância rosa, dominância turquesa, dominância amarela, dominância branca, matiz, intensidade, luminosidade, saturação, brilho e luma.

2.4.2 Geometria

As características avaliadas para geometria dos calos foram: área, circularidade, esfericidade da forma, diâmetro máximo, diâmetro mínimo e perímetro.

2.5 Delineamento experimental e análise dos dados

O delineamento experimental adotado para o experimento foi inteiramente casualizado, com esquema fatorial 3x4x2, três partes da planta (folha, raiz e caule), quatro formas de cultivo (campo, meio de cultura suplementado com 30, 60 e 120 mg L⁻¹) e dois tipos de batata-doce (batata-doce roxa genótipo 2018-72-1407 e batata-doce laranja cultivar Beauregard) totalizando 24 tratamentos com três repetições cada. Para os tratamentos conduzidos em meio de cultura, cada repetição continha oito frascos com dez explantes, totalizando 24 frascos por tratamento.

Os resultados foram submetidos à análise de variância do programa Sisvar, versão 5.6, e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. Análise do componente principal (PCA) e análise hierárquica de agrupamento (HCA) foram avaliados usando o software XLSTAT (versão 2017; Addinsoft, França).

3 RESULTADOS

3.1 Massa de calos

De acordo com a ANAVA existe diferença significativa entre a massa de calos formados em explantes de cada parte da planta, sendo os calos formados nos explantes obtidos da raiz menos desenvolvidos que os calos formados nos explantes obtidos das folhas e dos caules. Tanto os calos de explantes de batata-doce roxa ou de batata-doce laranja, se comportaram da mesma forma nessa questão (TABELA 1).

Tabela 1 - Médias da massa de calos formados em explantes obtidos das folhas, raízes e caule de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beuregard.

Parte da planta	Médias de massa de calo (g)
Caule	17,52 a
Folha	17,42 a
Raiz	10,14 b

CV (%) 35,41

Média geral: 15,02 gramas

As médias seguidas de mesma letra, não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

A quantidade de sacarose também influenciou no desenvolvimento e ganho de peso dos calos, como mostra a Tabela 2. Para a cultivar comercial Beauregard, em meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose, independente da parte da planta que o explante foi obtido, os explantes desenvolveram maior massa de calos. O desenvolvimento dos calos da cultivar Beauregard, para explante obtido de qualquer parte da planta, em meio de cultura suplementado com 120 mg L⁻¹ de sacarose foi bem menor que o desenvolvimento de calos em 60 mg L⁻¹ e em 30 mg L⁻¹. O mesmo aconteceu para a batata-doce roxa, genótipo 2018-72-1407, onde houve maior desenvolvimento de massa de calos em meio de cultura com 30 mg L⁻¹ de sacarose e menor desenvolvimento de massa de calos em meio de cultura com 120 mg L⁻¹ de sacarose.

Houve diferença no comportamento dos explantes da batata-doce laranja (Beauregard) e da batata-doce roxa (genótipo 2018-72-1407) para o desenvolvimento de calos nos meios de cultura suplementados com três concentrações de sacarose diferentes, existindo, então, uma interação entre o meio de cultivo e a variedade da batata-doce (TABELA 2). Para o meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose, a batata-doce roxa e batata-doce laranja se

comportaram de forma semelhante, não havendo diferença significativa entre as médias de massa de calos entre a cultivar Beauregard e o genótipo 2018-72-1407. O mesmo aconteceu para o meio de cultura suplementado com 120 mg L⁻¹ de sacarose. Já para o meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose, a batata-doce laranja adquiriu mais massa de calos que a batata-doce roxa (TABELA 2).

Tabela 2 - Médias da massa de calos formados em explantes de partes das plantas do genótipo 2018-72-1407 e da cultivar Beauregard nos meios de cultivo suplementados com 30 mg L⁻¹ de sacarose, 60 mg L⁻¹ de sacarose e 120 mg L⁻¹ de sacarose. Desdobramento da interação meio de cultivo x variedade de batata-doce.

mg L⁻¹ de sacarose no meio de cultivo	Genótipo 2018-72-1407	Beauregard
30	31,50 Aa	29,16 Aa
60	10,59 Bb	16,96 Ba
120	1,07 Ca	0,89 Ca

CV (%) 35,41

Média geral: 15,02 gramas

As médias nas colunas seguidas de mesma letra maiúscula e nas linhas pela mesma letra minúscula, não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

Como pode ser observado, nas análises de variância para massa de calos, representadas na Tabela 2, os calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 120 mg L⁻¹ de sacarose se desenvolveram muito pouco, resultando em valores baixos de massa de calo. Especificamente, os calos de explantes de folha e raiz apresentaram baixíssimo desenvolvimento em meio de cultura suplementado com 120 mg L⁻¹ de sacarose, tanto para o genótipo quanto para a cultivar, portanto, a quantidade de amostra não foi suficiente para realizar os testes proposto. Sendo assim, para as análises realizadas, foi preciso estudar o comportamento dos calos de explantes obtidos do caule de forma separada, excluindo as análises para as amostras de calos de explantes obtidos da folha e da raiz desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 120 mg L⁻¹ de sacarose.

3.2 Fenólicos totais

Para a quantificação de fenólicos totais, de acordo com a ANAVA, houve interação tripla, tendo influência da parte da planta, do meio de cultura e da variedade da batata-doce, na produção de fenólicos nos calos formados, cada tratamento se comportando de maneira diferente para cada um desses fatores.

Para o desdobramento parte da planta x condições de cultivo – variedade da batata-doce (TABELA 3), a quantidade de fenólicos em folhas e caules de plantas da cultivar Beauregard conduzidas no campo não apresentaram diferenças significativas, apresentando maiores médias que as amostras de raízes. Comportamento semelhante foi observado nas amostras de calos de explantes obtidos da batata-doce roxa, genótipo 2018-72-1407, desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose, onde os calos das folhas e de caule apresentaram maior quantidade de fenólicos totais, não se diferenciando estatisticamente.

Em meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose, para a cultivar Beauregard, as amostras de calos de explantes obtidos de folhas apresentaram maiores médias de quantidade de fenólicos, sem diferenças estatísticas entre os calos de caule e raiz. Já para o genótipo 2018-72-1407, os calos de explantes de caule apresentaram menor produção de fenólicos totais que os calos de explantes obtidos de folha e de raiz.

A tabela de análise de variância para o desdobramento condições de cultivo x parte da planta – variedade da batata-doce (TABELA 3) apresentou diferença significativa somente para três fatores. Para as amostra de calos de explantes obtidos das folhas da cultivar Beauregard, o meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose proporcionou maior produção de fenólicos totais, já para calos de explantes da raiz da cultivar Beauregard, os meios de cultura suplementados com 30 mg L⁻¹ e 60 mg L⁻¹ de sacarose, não se diferenciaram estatisticamente, apresentando maiores produções de fenólicos totais que as amostras de raízes do campo. Por fim, para o genótipo 2018-72-1407, foi observado produção de fenólicos semelhante em raízes do campo e em calos de explantes de raiz desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose, apresentando maiores médias.

Já para o desdobramento variedade da batata-doce x parte da planta – condições de cultivo (TABELA 3), somente a raiz apresentou comportamentos distintos quando comparado ao genótipo 2018-72-1407 com a cultivar Beauregard. No campo, o genótipo 2018-72-1407 apresentou maior média e em meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose, os calos de explantes obtidos da raiz da cultivar Beauregard apresentaram maior produção de fenólicos totais. O restante das amostras não apresentou diferença estatística entre suas médias para este desdobramento.

Tabela 3 - Quantidade média de fenólicos totais em gramas de ácido gálico/100 gramas de amostra de folha, caule e raiz de plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 mg L

Condições de cultivo	Genótipo 2018-72-1407			Beauregard		
	Folha	Caule	Raiz	Folha	Caule	Raiz
Campo	1,415 Aαα	1,194 Aαα	1,360 Aαα	1,211 Baα	1,196 Aαα	0,920 Bbβ
30 mg L⁻¹	1,280 Aαα	1,054 Aαα	0,642 Bbβ	1,210 Baα	1,115 Aαα	1,294 Aαα
60 mg L⁻¹	1,511 Aαα	1,362 Aαα	1,078 Abα	1,557 Aαα	1,178 Abα	1,350 Abα

CV (%) 12,07

Média geral: 1,218 g de ácido gálico/100 g de amostra

As médias nas colunas seguidas de mesma letra maiúscula, pela mesma letra minúscula nas linhas para cada ambiente e pela mesma letra grega nas linhas para cada parte da planta não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

Observando os resultados do caule conduzido em campo e dos calos de explantes obtidos do caule de forma separada, a ANAVA apresentou significância para as médias das diferentes condições de cultivo, onde os calos desenvolvidos em meio de cultura suplementados com 120 mg L⁻¹ de sacarose demonstraram uma maior produção de fenólicos totais, tanto para o genótipo quanto para a cultivar (TABELA 4).

Tabela 4 - Produção de fenólicos totais em gramas de ácido gálico/100g de amostra de calos formados em explantes do caule desenvolvidos em meio de cultivo suplementado com 30 mg L⁻¹, 60 mg L⁻¹ e 120 mg L⁻¹ de sacarose e de caule das plantas conduzidas no campo do genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.

Condições de cultivo	Médias
Campo	1,195 b
30 mg L⁻¹ de sacarose	1,085 b
60 mg L⁻¹ de sacarose	1,128 b
120 mg L⁻¹ de sacarose	1,373 a

CV (%) 12,42

Média geral: 1,195 g de ácido gálico/100 g de amostra

As médias seguidas de mesma letra, não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

3.3 Flavonoides

A análise de variância para os flavonoides quantificados em equivalência de quercetina nas amostras indicou interação tripla significativa. Os resultados observados para o desdobramento parte da planta x condição de cultivo – variedade da batata-doce mostram que, no campo, a cultivar Beauregard apresentou maior produção de flavonoides totais nas folhas,

obtendo maior média, seguido das médias de caule e raiz, que não se diferem estatisticamente. Já para o genótipo 2018-72-1407, as médias das três diferentes partes da planta cultivada no campo se diferem estatisticamente, sendo maior valor atribuído às amostras de folha, seguido da raiz e por último do caule.

Houve significância também para as amostras de calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose, onde calos de explantes obtidos de folha e de caule de batata-doce cultivar Beauregard apresentaram maiores valores de quantidade de flavonoides totais, sem diferenças significativas entre si. Para o genótipo 2018-72-1407, não houve diferença significativa para calos de explantes obtidos de raiz e de caule, sendo atribuída maior média às amostras de calos de explantes obtidos das folhas (TABELA 5).

Para o desdobramento condições de cultivo x parte da planta – variedade da batata-doce (TABELA 5), houve diferença significativa entre as médias de todos os fatores. Amostras de calos de explantes obtidos de caule desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose e amostras de caule de plantas cultivadas no campo apresentaram maiores quantidades de flavonoides totais em batata-doce cultivar Beauregard, sem diferenças significativas entre si. Já para a batata-doce genótipo 2018-72-1407, houve diferença significativa entre amostras de caule de plantas cultivadas no campo, apresentando maior média, e, sem diferença significativa, as amostras de calos de explantes obtidos de caule desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 60 e 30 mg L⁻¹ de sacarose apresentaram valores menores de produção de flavonoides totais.

As amostras de folhas, tanto do genótipo quanto da cultivar, apresentaram maiores valores de flavonoides totais quando cultivadas no campo, seguido de amostras de calos de explantes de folhas desenvolvidas em meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹, e, apresentando menor média para as amostras de calos desenvolvidos em meio de cultura com 30 mg L⁻¹ de sacarose, apresentado na Tabela 5. Também se observou o mesmo comportamento entre o genótipo e a cultivar quando se trata de amostras da raiz. Raízes de plantas cultivadas no campo apresentaram maior produção de flavonoides totais que os calos desenvolvidos em 60 mg L⁻¹ ou em 30 mg L⁻¹, não havendo diferença entre as médias das amostras de calos nos meios de cultura com as duas diferentes concentrações de sacarose.

Por fim, para o desdobramento da interação tripla variedade da batata-doce x parte da planta – condição de cultivo, as amostras de calos de explantes de caule desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose indicaram maiores produções de flavonoides totais para a cultivar Beauregard. A cultivar Beauregard também apresentou maior produção de flavonoides totais nas folhas de plantas cultivadas no campo. Já para calos de

explantes obtidos das folhas desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose, o genótipo 2018-72-1407 apresentou maior média de produção de flavonoides totais (TABELA 5).

Tabela 5 - Quantidade média de flavonoides totais em gramas de ácido gálico/100 gramas de amostra de folha, caule e raiz de plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ e 60 mg L⁻¹ de sacarose, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.

Condições de cultivo	Genótipo 2018-72-1407			Beauregard		
	Folha	Caule	Raiz	Folha	Caule	Raiz
Campo	71,080 Aa β	32,340 Aca	46,123 Aba	115,424 Aaa	37,607 Aba	45,524 Aba
30 mg L⁻¹	19,506 Ca α	10,738 Ba α	7,167 Ba α	6,445 Ca β	7,461 Ba α	8,654 Ba α
60 mg L⁻¹	39,260 Ba α	20,658 Bb β	18,360 Bba	45,507 Ba α	42,708 Aaa	17,724 Bba

CV (%) 21,61

Média geral: 32,880 g de quercetina/100 g de amostra

As médias nas colunas seguidas de mesma letra maiúscula, pela mesma letra minúscula nas linhas para cada ambiente e pela mesma letra grega nas linhas para cada parte da planta não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

A observação das amostras de caule, de forma separada, incluindo o meio de cultura suplementado com 120 mg L⁻¹ de sacarose, estão representadas na Tabela 6 e mostrou que a batata-doce roxa, genótipo 2018-72-1407, e a batata-doce laranja, cultivar Beauregard, se comportaram de forma distinta em relação à condição de cultivo que estão submetidas, ocorrendo diferença estatística das médias quando os calos são desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹, onde a cultivar Beauregard apresentou maior produção de flavonoides totais que o genótipo 2018-72-1407.

Quando se trata da comparação da forma de cultivo para cada variedade de batata-doce, para a cultivar Beauregard, o meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose proporcionou menor produção de flavonoides totais na amostra de calos, não havendo diferença estatística entre as amostras de calos dos meios suplementados com 60 mg L⁻¹ e 120 mg L⁻¹ de sacarose e das amostras de parte de plantas cultivadas no campo. Já para o genótipo 2018-72-1407, os meios de cultura suplementados com 30 mg L⁻¹ de sacarose e 60 mg L⁻¹ de sacarose, não se diferenciaram estatisticamente, apresentando menores concentrações de flavonoides totais (TABELA 6).

Tabela 6 - Quantidade média de flavonoides totais em gramas de ácido gálico/100 gramas de amostra de caule de plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de caule desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹, 60 mg L⁻¹ e 120 mg L⁻¹ de sacarose, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.

Condição de cultivo	Genótipo 2018-72-1407	Beauregard
Campo	32,340 Aa	37,453 Aa
30 mg L⁻¹ de sacarose no meio	10,738 Ba	7,461 Ba
60 mg L⁻¹ de sacarose no meio	20,658 Bb	42,708 Aa
120 mg L⁻¹ de sacarose no meio	34,754 Aa	37,453 Aa

CV (%) 24,29

Média geral: 27,965 g de quercetina/100 g de amostra

As médias nas colunas seguidas de mesma letra maiúscula e nas linhas pela mesma letra minúscula, não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

3.4 Atividade antioxidante

Para a quantificação da atividade antioxidante utilizando o método fosfomolibdênio, a ANAVA apresentou interação entre a parte da planta em que o explante foi obtido e o meio de cultura de desenvolvimento dos calos, havendo dependência no comportamento dos fatores mencionados (TABELA 7). As médias dos valores da capacidade antioxidante, para batata-doce roxa e para batata-doce laranja, das folhas provindas do campo, foram maiores que do caule e da raiz. Para os calos formados em meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose, nos explantes de folha e de raiz, os valores da capacidade antioxidante foram semelhantemente maiores que nos explantes de caule. Já no meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose, não houve diferença significativa entre calos de explante da folha, raiz e caule.

Para o desdobramento da interação parte da planta dentro de cada condição de cultivo, os calos formados em explantes das folhas em meio de cultivo suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose, obteve maior valor de atividade antioxidante, seguido das folhas do campo e, com menor valor de atividade antioxidante, os calos formados de explantes das folhas. Assim também aconteceu com os valores da atividade antioxidante do caule, apresentando maior média para os calos formados em meio de cultivo suplementado com 60 mg L⁻¹, seguido do caule obtido da planta do campo e apresentando menor valor aos calos desenvolvidos em meio de cultivo suplementado com 30 mg L⁻¹. Já para as médias de atividade antioxidante apresentadas pela raiz no campo e em calos formados em meio de cultivo suplementado com 30 mg L⁻¹, não houve diferença significativa, sendo maior valor de atividade antioxidante

atribuído para os calos formados em explantes da raiz desenvolvido em meio de cultivo suplementado com 60 mg L⁻¹ (TABELA 7).

Tabela 7 - Médias de atividade antioxidante em mg de ácido ascórbico/100 g de amostra dos calos formados em explantes obtidos de diferentes partes das plantas em diferentes meios de cultivo (30 mg L⁻¹ e 60 mg L⁻¹) e de folha, caule e raiz das plantas de batata-doce conduzidas no campo. Desdobramento da interação parte da planta x condições de cultivo.

Parte da planta	Campo	30 mg L ⁻¹	60 mg L ⁻¹
Folha	546,54 Ab	220,83 Ac	913,97 Aa
Caule	324,16 Bb	139,30 Bc	1003,01 Aa
Raiz	340,67 Bb	257,63 Ab	948,18 Aa

CV (%) 14,27

Média geral: 521,59 mg de ácido ascórbico/100 g de amostra

As médias nas colunas seguidas de mesma letra maiúscula e nas linhas pela mesma letra minúscula, não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

Ao considerarmos a batata-doce roxa e a batata-doce laranja em interação com a condição de cultivo (campo, meio de cultivo com 30 mg L⁻¹ de sacarose e meio de cultivo com 60 mg L⁻¹ de sacarose), a análise de variância apresentou significância, sendo os maiores valores de média atribuídos aos calos desenvolvidos em meio de cultivo suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose, seguido das batatas conduzidas no campo e, com menor média, os calos desenvolvidos em meio de cultivo suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose, tanto para o genótipo 2018-72-1407, quanto para a cultivar Beauregard, como observado na Tabela 8.

No campo e em meio de cultivo suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose, a cultivar Beauregard apresentou maiores valores de atividade antioxidante, enquanto que para os calos desenvolvidos em meio de cultivo suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose, não houve diferença significativa para os dois diferentes tipos de batata (TABELA 8).

Tabela 8 - Médias de atividade antioxidante em mg de ácido ascórbico/100 g de amostra de plantas e calos de explantes de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard em diferentes condições de cultivo (plantas conduzidas no campo, calos de explantes desenvolvidos em meio de cultivo com 30 mg L⁻¹ e 60 mg L⁻¹ de sacarose). Desdobramento da interação condições de cultivo x variedade da batata-doce.

Condição de cultivo	Genótipo 2018-72-1407	Cultivar Beauregard
Campo	338,79 Bb	768,78 Ba
30 mg L⁻¹ de sacarose	187,02 Ca	224,82 Ca
60 mg L⁻¹ de sacarose	731,88 Ab	1178,23 Aa

CV (%) 14,27%

Média geral: 521,59 mg de ácido ascórbico/100 g de amostra

As médias nas colunas seguidas de mesma letra maiúscula e nas linhas pela mesma letra minúscula, não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

Levando em consideração a atividade antioxidante nas diferentes partes das plantas para a batata-doce roxa representada na Tabela 9, as folhas e o caule apresentaram maiores médias, enquanto as raízes apresentaram menor atividade antioxidante, assim como as raízes da batata-doce laranja também apresentou menor média, sem diferença significativa para as folhas, sendo maior, neste caso, o valor da atividade antioxidante do caule para a cultivar Beauregard. Adicionalmente, a cultivar Beauregard, segundo desdobramento da interação, apresentou maior atividade antioxidante que o genótipo 2018-72-1407 em todas as partes da planta.

Tabela 9 - Atividade antioxidante em mg de ácido ascórbico/100 g de amostra de diferentes partes da planta (folha caule e raiz) de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard. Desdobramento da interação parte da planta x variedade da batata-doce.

Parte da planta	Genótipo 2018-72-1407	Beauregard
Folha	457,43 Bb	663,46 Aa
Caule	343,51 Ab	634,14 Aa
Raiz	456,75 Bb	574,24 Ba

CV (%) 14,27%

Média geral: 521,59 mg de ácido ascórbico/100 g de amostra

As médias nas colunas seguidas de mesma letra maiúscula e nas linhas pela mesma letra minúscula, não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

Analisando separadamente a atividade antioxidante para o caule, observa-se que os calos desenvolvidos em meio de cultivo suplementado com 120 mg L⁻¹ de sacarose apresentam maior média que aqueles submetidos às demais condições de cultivo, tanto para a batata-doce roxa quanto para a batata-doce laranja. A batata-doce laranja apresentou melhor atividade

antioxidante que a batata-doce roxa, independente da condição de cultivo, concordando com a tabela anterior (TABELA 10).

Tabela 10 - Médias de atividade antioxidante em mg de ácido ascórbico/100 g de amostra de calos formados em explantes do caule desenvolvidos em meio de cultivo suplementado com 30 mg L⁻¹, 60 mg L⁻¹ e 120 mg L⁻¹ de sacarose e de caule das plantas conduzidas no campo do genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard. Desdobramento da interação condições de cultivo x variedade da batata-doce.

Condições de cultivo	Genótipo 2018-72-1407	Beauregard
Campo	238,38 Db	409,94 Da
30 mg L⁻¹ de sacarose	50,69 Cb	227,91 Ca
60 mg L⁻¹ de sacarose	741,46 Bb	1264,56 Ba
120 mg L⁻¹ de sacarose	1584,53 Aa	1688,23 Aa

CV (%) 10,17

Média geral 775,71 mg ácido ascórbico/100 g de amostra

As médias nas colunas seguidas de mesma letra maiúscula e nas linhas pela mesma letra minúscula, não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

3.5 Antocianina

Segundo a análise de variância da quantificação de antocianina produzida nas amostras, houve diferença estatística para a interação condição de cultivo x parte da planta (TABELA 11). Somente as amostras da batata-doce de polpa roxa, genótipo 2018-72-1407, foram submetidas às análises de quantificação da antocianina, não existindo, neste caso, a comparação entre a batata-doce de polpa roxa e a cultivar Beauregard. A análise mostra que entre as amostras de folha, caule e raiz de plantas de batata-doce roxa conduzida no campo, a raiz apresentou maior produção de antocianina, não havendo diferença estatística entre a quantidade de antocianina nas amostras de caule e de folha.

No meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose, os calos de explantes obtidos das folhas de batata roxa apresentaram concentração maior de antocianina que os calos de explantes obtidos do caule, sendo que este, apresentou maior produção de antocianina que os calos de explantes obtidos da raiz de batata-doce roxa. Já para o meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose, a ANAVA não apresentou diferença estatística entre as médias dos calos de explantes obtidos da folha, caule ou raiz (TABELA 11).

Ainda de acordo com a análise de variância descrita na Tabela 11, os calos de explantes obtidos das folhas desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose, apresentaram maiores médias para a produção de antocianina. Para o caule, não houve diferença estatística, e para a raiz, maior valor de média foi atribuída às amostras de raiz do campo,

seguida das amostras de calos de explantes de raiz desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose e, por último, os calos de explantes de raiz desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose.

Tabela 11 - Médias em mg de antocianinas totais/100g de amostra de folha, caule e raiz de plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 e 60 mg L⁻¹ de sacarose de batata-doce roxa, genótipo 2018-72-1407. Desdobramento da interação parte da planta x condição de cultivo.

Parte da planta	Campo	30 mg L ⁻¹ de sacarose	60 mg L ⁻¹ de sacarose
Folha	0,063 Bb	0,174 Aa	0,044 Ab
Caule	0,020 Ba	0,074 Ba	0,065 Aa
Raiz	0,290 aA	0,003 Cc	0,065 Ab

CV (%) 36,47

Média geral: 0,089 mg de antocianinas totais/100 g de amostra

As médias nas colunas seguidas de mesma letra maiúscula e nas linhas pela mesma letra minúscula, não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

A análise de variância das amostras de caule feita separadamente para incluir o meio de cultura suplementado com 120 mg L⁻¹ de sacarose, não apresentou diferença estatística pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

3.6 Sólidos solúveis (°Brix)

Os resultados da tabela de análise de variância para porcentagem sólidos solúveis nas amostras, indicam interação tripla significativa e está representado na Tabela 12. Para a interação parte da planta x condição de cultivo – variedade da batata-doce, a cultivar Beauregard conduzida no campo apresentou médias mais altas de porcentagem de brix nos caules e nas folhas, sem diferença estatística entre elas. Já as amostras de calos de explantes obtidos de raiz de batata-doce genótipo 2018-72-1407 apresentaram maior porcentagem de brix, seguindo dos calos de explantes de caule e folha. Para o meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose, as amostras de calos de explantes obtidos de folhas e caules, apresentaram maior porcentagem para o genótipo, enquanto que para a cultivar, os calos de explantes obtidos de raiz e de caule obtiveram maior porcentagem de brix.

Para todos os diferentes tratamentos, de acordo com o desdobramento da interação tripla condições de cultivo x parte da planta – variedade da batata-doce (TABELA 12), o meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose proporcionou maior porcentagem de brix nas amostras. As folhas e caules conduzidas em campo, independentemente da variedade da batata-

doce, apresentaram maior porcentagem de brix que o meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose. Já para as raízes conduzidas no campo, a porcentagem foi menor, tanto para o genótipo 2018-72-1407 quanto para a cultivar Beauregard.

O desdobramento variedade da batata-doce x parte da planta - condições de cultivo, mostrou que a cultivar Beauregard apresentou maior porcentagem de brix que o genótipo para amostras de caules conduzidas no campo e para amostras de calos de explantes obtidos de folha desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose. Já para amostras de calos de explantes obtidos da raiz, o genótipo 2018-72-1407 apresentou maior porcentagem de brix (TABELA 12).

Tabela 12 - Porcentagem média de sólidos solúveis (°Brix) de amostra de folha, caule e raiz de plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ e 60 mg L⁻¹ de sacarose, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.

Condições de cultivo	Genótipo 2018-72-1407			Beauregard		
	Folha	Caule	Raiz	Folha	Caule	Raiz
Campo	2,4Baα	2,0 Baβ	2,3 Baα	2,9 Baα	2,8 Baα	1,9 Bbα
30 mg L⁻¹	1,6 Cbα	1,7 Bbα	2,6 Baα	2,1 Caα	1,8 Caα	2,3 Baα
60 mg L⁻¹	5,7 Abβ	7,2 Aaα	7,7 Aaα	7,8 Aaα	7,7 Aaα	6,6 Abβ
CV (%) 11,06						
Média geral: 3,8%						

As médias nas colunas seguidas de mesma letra maiúscula, pela mesma letra minúscula nas linhas para cada ambiente e pela mesma letra grega nas linhas para cada parte da planta não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

Avaliando a porcentagem de sólidos solúveis nas amostras de caule conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de caule desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30, 60 e 120 mg L⁻¹ de sacarose, a batata-doce roxa, genótipo 2018-72-1407, e a batata-doce laranja, cultivar Beauregard, se comportaram de forma semelhante nas diferentes condições de cultivo (TABELA 13). Os resultados mostram que o meio de cultura suplementado com 120 mg L⁻¹ de sacarose proporcionou maior porcentagem de sólido solúveis nas amostras, seguido do meio de cultura com 60 mg L⁻¹ de sacarose, em seguida, o meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose e, com menor porcentagem, as amostras de caule conduzidas no campo.

Tabela 13 - Porcentagem média de °Brix das amostras de caules plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos do caule desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30, 60 e 120 mg L⁻¹ de sacarose.

Condições de cultivo	Médias de °Brix
Campo	2,4 d
30 mg L⁻¹ de sacarose	2,7 c
60 mg L⁻¹ de sacarose	7,5 b
120 mg L⁻¹ de sacarose	10,3 a

CV (%) 8,88

Média geral: 5,5%

As médias seguidas de mesma letra, não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autor (2021).

3.7 Potencial hidrogeniônico (pH)

De acordo com a análise de variância houve interação significativa para os fatores de variação parte da planta e forma de cultivo, ou seja, os valores de pH para as partes das plantas avaliadas variam de acordo com a forma de cultivo em que foram submetidas, e isso acontece tanto para a cultivar Beauregard quanto para o genótipo 2018-72-1407 (TABELA 14).

Os calos de explantes obtidos das folhas desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose apresentou um pH mais baixo que calos de explantes de folha desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose, e as folhas das plantas cultivadas no campo apresentaram maior valor de pH, dentre as três condições de cultivo. Para o caule, o valor de pH foi maior para o caule de plantas cultivadas no campo, não havendo diferença significativa entre os calos de explantes de caule cultivados em meio de cultura com 60 mg L⁻¹ de sacarose, sendo o menor valor observado para os calos de explantes de caule desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose. Para a raiz de plantas cultivadas no campo, atribuiu-se maior valor das médias do pH, não havendo diferença significativa entre os calos de explantes obtidos da raiz desenvolvidos nos meios de cultura suplementados com 30 ou 60 mg L⁻¹ de sacarose.

Para as plantas cultivadas no campo, o caule apresentou menor valor de pH, não havendo diferença significativa entre as folhas e as raízes, que apresentaram pH mais alto. No meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose os calos obtidos de explantes de raiz apresentou maior valor de pH, e no meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose, os calos de explantes obtidos do caule apresentou pH mais elevado.

Tabela 14 - Valores de pH de amostra dos calos formados em explantes obtidos de diferentes partes das plantas em diferentes meios de cultivo (30 mg L⁻¹ e 60 mg L⁻¹) e de folha, caule e raiz das plantas de batata-doce conduzidas no campo. Desdobramento da interação parte da planta x condições de cultivo.

Parte da planta	Campo	30 mg L ⁻¹	60 mg L ⁻¹
Folha	6,2 Aa	5,1 Bc	5,6 Ab
Caule	5,5 Ba	5,3 Bb	5,6 Aa
Raiz	6,1 Aa	5,4 Ab	5,7 Ab

CV (%) 2,87

Média geral: 5,6

As médias nas colunas seguidas de mesma letra maiúscula e nas linhas pela mesma letra minúscula, não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

Analisando o caule separadamente, a análise de variância apontou diferença significativa somente entre a forma de cultivo, mostrando que as médias dos valores de pH das plantas conduzidas no campo são menores que as médias dos calos de explantes desenvolvidos nos meios de cultura suplementados com 30, 60 e 120 mg L⁻¹, não havendo diferença estatística entre os valores de pH dos calos desenvolvidos nos três meios de cultura (TABELA 15).

Tabela 15 - Médias dos valores de pH das amostras de caule de plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de caule desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30, 60 e 120 mg L⁻¹ de sacarose.

Condições de cultivo	Médias de pH
Campo	5,3 b
30 mg L ⁻¹ de sacarose	5,5 a
60 mg L ⁻¹ de sacarose	5,7 a
120 mg L ⁻¹ de sacarose	5,7 a

CV (%) 3,46

Média geral: 5,6

As médias seguidas de mesma letra, não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

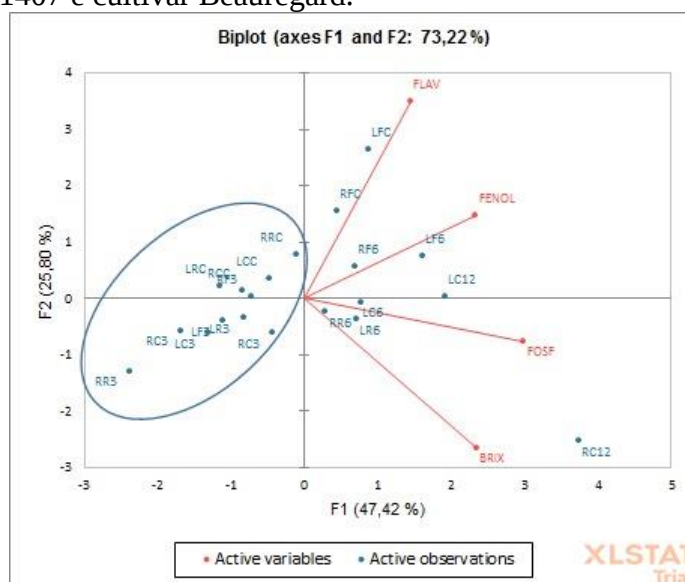
Fonte: Da autora (2021).

3.8 Análise do componente principal (PCA) e análise hierárquica de agrupamento (HCA)

Com o objetivo de agrupar as diferentes amostras para melhor visualização dos resultados, foi aplicada a análise de componentes principais (PCA), que explicou 73,22% da variação dos dados resultantes do conteúdo de fenólicos totais, flavonoides totais, atividade antioxidante pelo método do fosfomolibdênio e de sólidos solúveis nas amostras de calos de explantes de folhas, caule e raiz e folhas, caule e raiz de plantas conduzidas no campo de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard. A Figura 1 mostra que amostras de raiz e

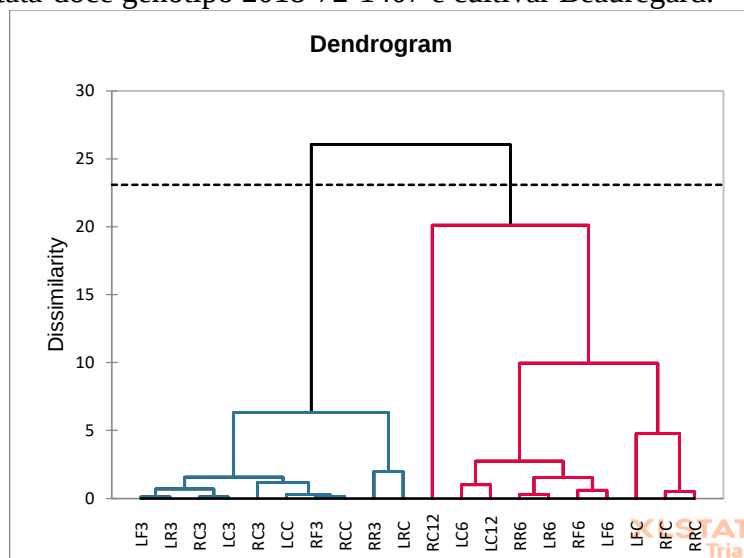
caule de plantas de batata-doce conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose, do genótipo 2018-72-1407 e da cultivar Beauregard, apresentaram menor afinidade com as análises em questão, obtendo valores mais baixos, agrupando-se em F1 -, que explica 47,42% da variância dos dados. Na análise de agrupamento hierárquico (HCA) (FIGURA 2) observa-se a dissimilaridade entre as amostras citadas e as amostras de calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ e 120 mg L⁻¹ de sacarose e as folhas de plantas conduzidas no campo.

Figura 1 - Projeção bidimensional e pontuação das características bioquímicas dos compostos fenólicos totais, flavonoides totais, atividade antioxidante método fosfomolibdênio e sólidos solúveis (°Brix) em amostras de folha, caule e raiz de plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.



Fonte: Da autora (2021).

Figura 2 - Análise hierárquica de agrupamento (HCA) das características bioquímicas de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, atividade antioxidante método fosfomolibdênio e sólidos solúveis (°Brix) em amostras de folha, caule e raiz de plantas conduzidas no campo e de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.



Fonte: Da autora (2021).

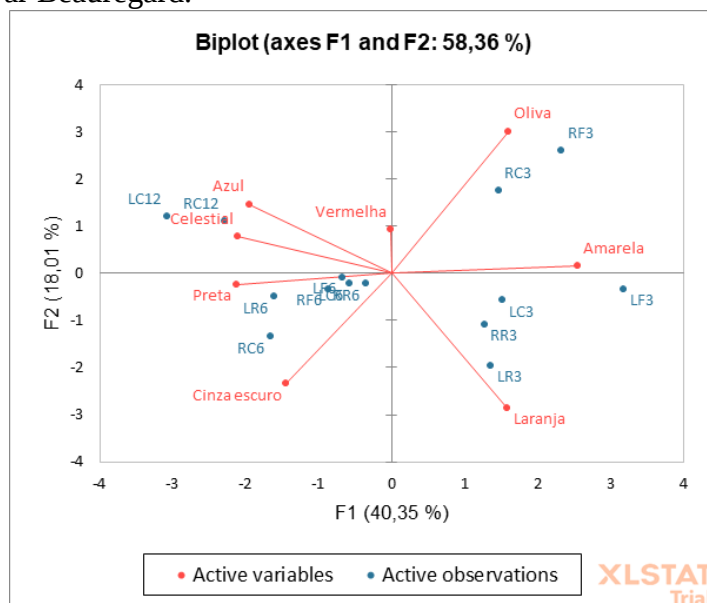
3.9 Análise de imagem

3.9.1 Coloração dos calos

A análise de imagem no equipamento GroundEye forneceu informações sobre a coloração dos calos, sendo que, segundo a análise, nos calos desenvolvidos em meio de cultura contendo 60 mg L⁻¹ de sacarose, de explantes de folha, caule e raiz, tanto do genótipo quanto da cultivar, apresentaram predominância das cores pretas e cinza escuro (FIGURA 3). Nos calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose, as cores laranja, amarela e oliva estiveram presentes, como mostra a Figura 3. Já para os calos de explantes de caule desenvolvidos em meio de cultura contendo 120 mg L⁻¹ de sacarose, o azul e o celestial foram detectados pelo software.

A análise de componentes principais (PCA) explicou 58,36% da variação dos dados resultantes da presença das cores azul, vermelha, oliva, amarela, laranja, cinza escuro, preta e celestial, fornecidas pelo relatório do equipamento GroundEye, nas amostras de calos de explantes obtidos da folha, caule e raiz de batata-doce de polpa roxa e de polpa laranja.

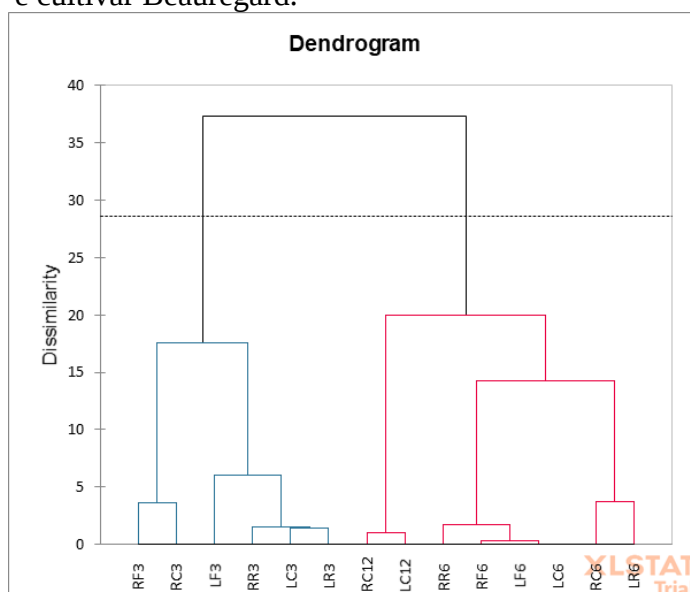
Figura 3 - Projeção bidimensional e pontuação das características de cor em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.



Fonte: Da autora (2021).

A Figura 4 apresenta o dendrograma que agrupa as amostras de calos desenvolvidos em meio de cultura suplementados com 30 mg L⁻¹ de sacarose e as amostras de calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose mais as amostras de calos desenvolvidas em meio de cultura contendo 120 mg L⁻¹ de sacarose, mostrando a dissimilaridade entre esses dois grupos.

Figura 4 - Análise hierárquica de agrupamento (HCA) das características de cor em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.

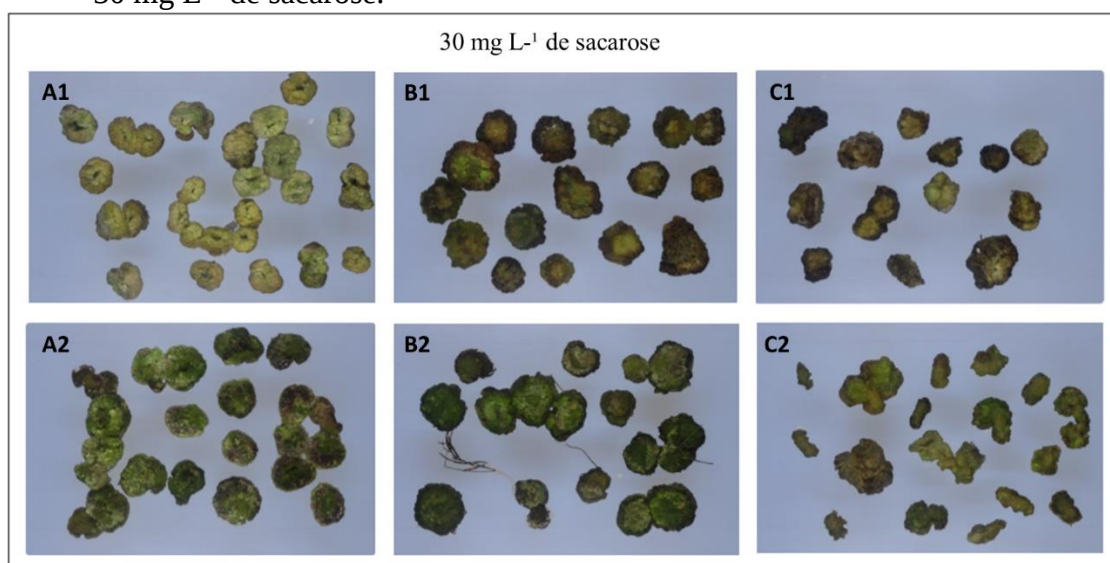


Fonte: Da autora (2021).

As Figuras 5, 6 e 7 mostram as diferentes colorações e formas dos calos, sendo que cada foto é de uma repetição que representa o tratamento. É possível observar que o meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose proporciona calos menores e mais escuros, apresentando como resultado da avaliação pelo GroundEye dominância das cores preta e cinza escuro como mostrado na Figura 3. Assim como é observado no meio de cultura suplementado com 120 mg L⁻¹, onde houve pouco desenvolvimento de calos, uma coloração mais escura, identificado pelo GroundEye como cores dominantes o azul e celestial (FIGURA 3).

Os calos ilustrados na Figura 5 representam aqueles tratamentos que tiveram maior afinidade com as cores oliva, amarelo e laranja na análise de componentes principais (PCA), pelos valores de dominância dessas cores obtidos pela análise de imagem no equipamento GroundEye.

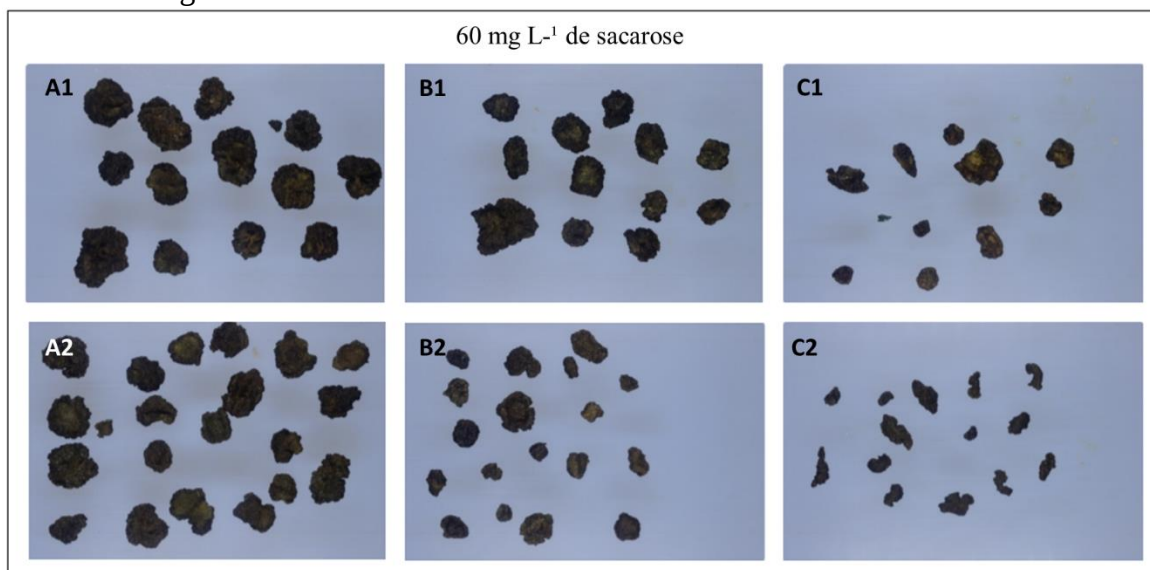
Figura 5 - Imagens obtidas pelo equipamento GroundEye para análise de imagem das amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard, desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹ de sacarose.



A: calos de explantes obtidos de folha, B: calos de explantes obtidos de caule, C: calos de explantes obtidos de raiz. 1: calos de batata-doce cultivar Beauregard, 2: calos de batata-doce genótipo 2018-72-1407.

Fonte: Da autora (2021).

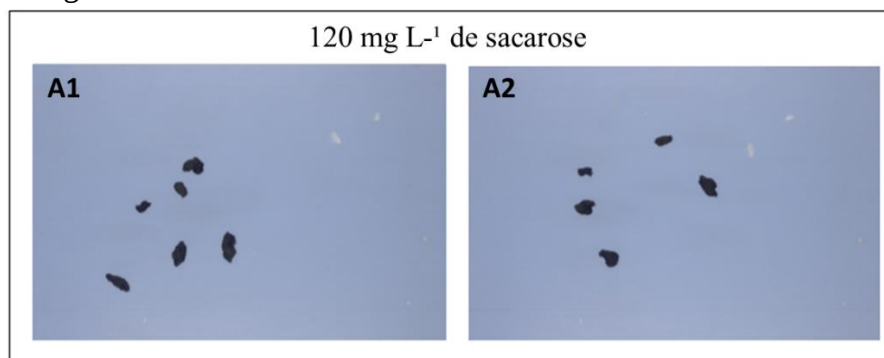
Figura 6 - Imagens obtidas pelo equipamento GroundEye para análise de imagem das amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard, desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose.



A: calos de explantes obtidos de folha, B: calos de explantes obtidos de caule, C: calos de explantes obtidos de raiz. 1: calos de batata-doce cultivar Beauregard, 2: calos de batata-doce genótipo 2018-72-1407.

Fonte: Da autora (2021).

Figura 7 - Imagens obtidas pelo equipamento GroundEye para análise de imagem das amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard, desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 120 mg L⁻¹ de sacarose.



A: calos de explantes obtidos de folha, B: calos de explantes obtidos de caule, C: calos de explantes obtidos de raiz. 1: calos de batata-doce cultivar Beauregard, 2: calos de batata-doce genótipo 2018-72-1407.

Fonte: Da autora (2021).

3.9.2 Geometria

A ANOVA indicou diferença estatística entre todos os tratamentos ao avaliar os dados de geometria dos calos obtidos pelo equipamento de análise de imagem GroundEye. Os calos de explantes obtidos de folhas, do genótipo 2018-72-1407, desenvolvidos em meio de cultura

contendo 30 mg L⁻¹ de sacarose, apresentaram maior área, maior diâmetro máximo e maior perímetro, portanto, foram os calos que mais se desenvolveram. Já as amostras de calos obtidos de caule desenvolvidos em meio de cultura suplementados com 120 mg L⁻¹ de sacarose, do genótipo e da cultivar, apresentaram as medidas mais baixas de área, diâmetro máximo e perímetro, como mostra a Tabela 16.

De acordo com a Tabela 16, as imagens A1, A2, B1, B2 e C1, coletadas pelo equipamento GroundEye ilustradas na Figura 5, e as imagens A1, B1 e B2, ilustradas na figura 6, representam os calos que apresentaram característica circular, apresentando maiores valores de circularidade. E a imagem A2 da Figura 5 representa os calos que obtiveram maior valor de esfericidade, ou seja, sua forma é parecida com de uma esfera.

Tabela 16 - Valores médios de área (cm²), circularidade, esfericidade, diâmetro máximo (cm), diâmetro mínimo (cm) e perímetro (cm) das amostras de de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.

Tratamento	Área	Circularidade	Esfericidade	Diâmetro máximo	Diâmetro mínimo	Perímetro
RF3	4,8 a	0,67 b	59,42 b	3,17 a	1,29 a	16,71 a
RF6	1,5 c	0,73 a	24,54 c	1,60 b	1,08 b	5,98 c
RC3	2,65 b	0,70 a	75,75 a	2,25 b	1,32 a	12,00 b
RC6	0,55 d	0,74 a	23,08 c	0,95 c	0,67 d	3,41 c
RR3	1,31 c	0,61 b	33,21 c	1,62 b	0,80 c	6,35 c
RR6	0,80 d	0,55 b	37,10 c	1,28 c	0,59 d	4,95 c
LF3	2,16 b	0,71 a	32,58 c	1,97 b	1,11 b	8,1 c
LF6	1,53 c	0,75 a	23,62 c	1,57 b	1,12 b	5,80 c
LC3	2,37 b	0,78 a	48,31 b	1,95 b	1,4 a	10,19 b
LC6	1,54 c	0,73 a	27,77 c	1,63 b	1,13 b	6,35 c
LR3	1,58 c	0,71 a	36,69 c	1,70 b	1,06 b	7,29 c
LR6	0,73 d	0,67 b	28,45 c	1,15 c	0,72 c	4,14 c
RC12	0,91 d	0,56 b	29,30 c	0,64 c	0,35 e	2,15 c
LC12	0,21 d	0,51 b	26,37 c	0,73 c	0,34 e	2,31 c
CV (%)	38,54	7,31	33,07	18,96	8,53	34,34
Média geral	1,62	0,67	36,16	1,59	0,93	6,84

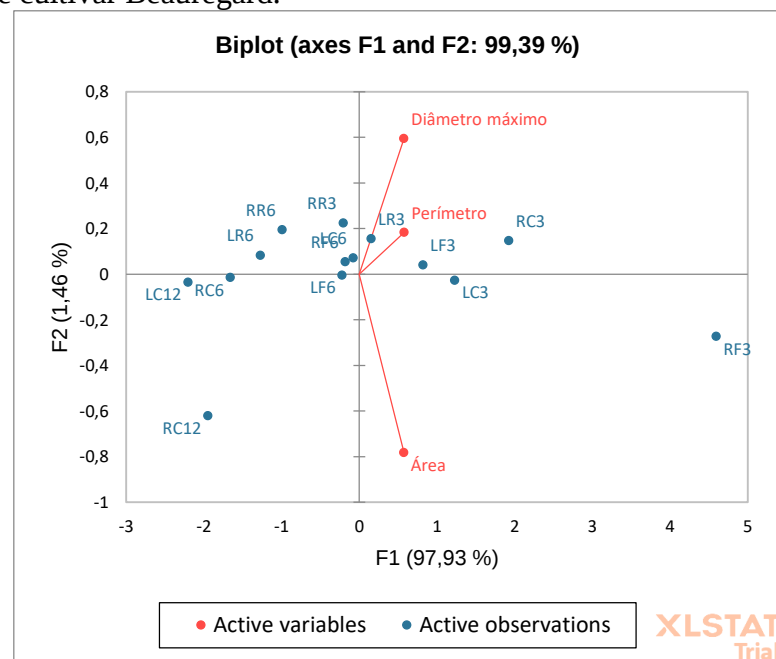
As médias seguidas de mesma letra, não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Da autora (2021).

Na Figura 8 está representada a análise de componentes principais (PCA), que explicou 99,39% da variação dos dados resultantes das características geométricas das amostras de calos analisadas. Observa-se menor afinidade das amostras de calos desenvolvidos em meio de cultura suplementado com 60 mg L⁻¹ de sacarose e 120 mg L⁻¹ de sacarose, tanto do genótipo

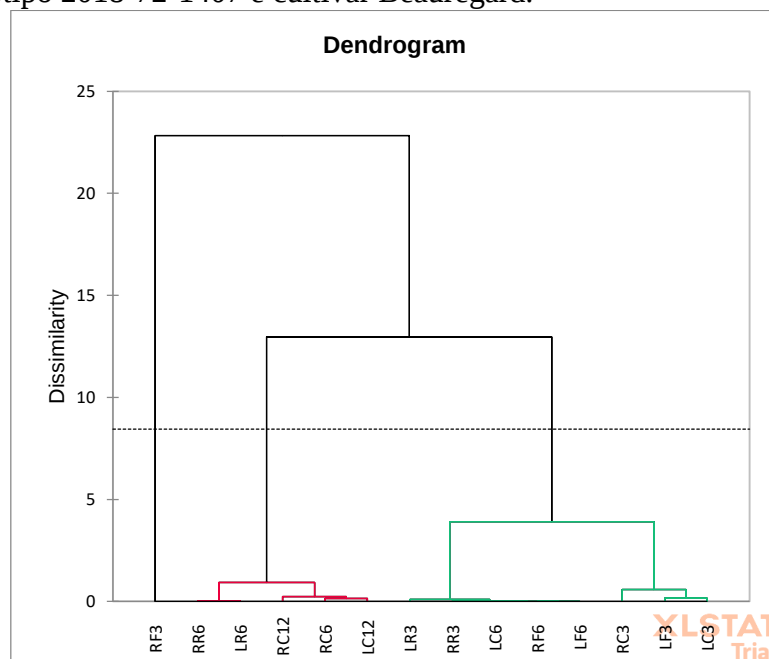
quanto da cultivar, com as características de área, diâmetro máximo e perímetro, mostrando que essas amostras apresentaram valores menores para essas características. Assim, com se observa na Figura 9, o agrupamento dessas amostras, mostrando dissimilaridade entre as amostras de calos desenvolvidos em meio de cultura contendo 60 mg L⁻¹ ou 120 mg L⁻¹ de sacarose e as amostras de calos desenvolvidas em meio de cultura suplementado com 30 mg L⁻¹, representado pela análise hierárquica de agrupamento (HCA) das características geométricas.

Figura 8 - Projeção bidimensional e pontuação das características geométricas em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.



Fonte: Da autora (2021).

Figura 9 - Análise hierárquica de agrupamento (HCA) das características geométricas em amostras de calos de explantes obtidos de folha, caule e raiz, de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard.



Fonte: Da autora (2021).

4 DISCUSSÃO

A quantidade de calos desenvolvidos depende de diversos fatores, como a composição do meio, fonte do explante, genótipo e ambiente (DHARMAPAL *et al.*, 2017). Mesmo quando utilizados os mesmos reguladores de crescimento nas mesmas concentrações, os diferentes explantes podem responder de formas distintas (ROBERTS *et al.*, 1984). Os resultados obtidos no presente estudo corroboram com as afirmações dos autores, mostrando que os explantes obtidos da raiz podem se desenvolver menos que explantes das folhas ou dos caules em meio de cultura suplementado com ANA e BAP. No entanto, o genótipo e a cultivar se comportaram de forma semelhante.

Além disso, o presente trabalho mostra que, quanto maior a concentração de sacarose no meio de cultura, menor é o desenvolvimento dos calos. Fazal *et al.* (2016) afirmam que altos teores de sacarose podem induzir estresse osmótico, o que explica o baixo desenvolvimento dos calos em meio de cultura suplementado com 120 mg L⁻¹ de sacarose. No entanto, nas amostras de calos de caule desenvolvidos em meio de cultura com 120 mg L⁻¹ de sacare observou-se maior atividade antioxidante e maiores teores de fenólicos totais e flavonoides totais, indicando que o estresse osmótico maximiza a produção de metabólitos secundários (FAZAL *et al.*, 2016).

É comum a prática de induzir e aumentar a produção de metabólitos secundários em cultura de tecidos usando elicitores e manipulando o meio de cultura (SAE-LEE *et al.*, 2014). Masuura *et al.* (2018) afirmam que, usando elicitores, os compostos bioativos em cultura de células podem aumentar significativamente. Em um experimento realizado por Lior *et al.* (2019), utilizando níveis crescentes de sacarose no meio de cultura para desenvolvimento de calos em explantes obtidos da casca da romã, observou-se que altos níveis de sacarose aumentou significativamente a produção de polifenóis e a atividade antioxidante nas amostras, corroborando com o presente estudo, especialmente para a atividade antioxidante, que apresentou resultados relevantes em meio de cultura com 120 mg L⁻¹ de sacarose.

De acordo com Islam (2014), o conteúdo de polifenóis totais encontrados em folhas de batata-doce é semelhante às hortaliças comerciais mais nutritivas. No presente estudo foi observado teores muito elevados de polifenóis totais não só nas folhas, mas em todos os tratamentos, sendo o meio de cultura suplementado com 120 mg L⁻¹ de sacarose responsável pela maior concentração de fenólicos em calos de explantes obtidos do caule.

Assim como observado no presente trabalho, Teau *et al.* (2007) observaram maiores teores de compostos fenólicos em batata-doce de polpa roxa. Já para os teores de flavonoides totais, a batata-doce de polpa laranja geralmente apresenta maiores taxas (SIMOES *et al.*, 2020). De acordo com Cartier *et al.* (2017), as batatas de polpa roxa possuem altos teores de antocianina, sendo consideradas o grupo mais importante para a coloração da batata-doce roxa (SALAWER *et al.*, 2015).

A demanda por corantes naturais cresce a cada ano, assim como a produção comercial de antocianina, no entanto, a exploração das plantas no campo e a dependência de espaço e tempo para produção desse composto é limitante, sendo a produção *in vitro* considerada uma alternativa com potencial produtivo para larga escala comercial (NEPOMUCENO, 2012). Existem diversas pesquisas que apresentam o efeito que as manipulações no meio de cultivo podem causar na produção de antocianina, como adição de reguladores de crescimento, estressores, dentre outros, existindo várias dúvidas sobre como identificar o estímulo necessário e intensidade para maximizar as produções de compostos secundários (GÓMEZ-ZELEDÓN; JIMÉNEZ, 2011).

Segundo Bichara (2016), a porcentagem de sólidos solúveis (açúcar, sais, proteínas, dentre outros) pode ser determinada pelo método Brix, indicando a presença de diferentes densidades em uma mesma solução através dos sólidos dissolvidos em um extrato de uma amostra. Observa-se que quanto maior a concentração de sacarose no meio de cultura, maior a porcentagem de sólidos solúveis na amostra. Observa-se também, no presente trabalho, valores

de pH entre 5,1 e 6,2 e, segundo De Oliveira *et al.* (2019), valores de pH abaixo de 5,5 pode indicar processo de oxidação.

O presente estudo apresenta, no geral, níveis mais elevados de compostos bioativos em amostras de calos desenvolvidos em meios de cultura suplementados com concentrações maiores de sacarose, no entanto, para essa amostras, os resultados das avaliações de massa e características físicas obtidas pelo GroundEye foram inferiores, ou seja, houve um menor desenvolvimento dos calos. Isso pode ser explicado pela condição de estresse causada pelo alto teor de sacarose no meio, onde os calos se desenvolvem menos, mas concentram mais compostos para combater o estresse.

O GroundEye analisa imagens de forma individual, o equipamento é utilizado para a análise de sementes e plântulas, fornecendo característica relacionadas a cor, textura, geometria, uniformidade, vigor e crescimento de plântulas (PINTO *et al.*, 2015; ANDRADE *et al.*, 2016, KRAUSE *et al.*, 2017). Não existem relatos do uso do equipamento para análise de calos obtidos pelas técnicas da cultura de tecidos vegetais, mas foi extremamente eficiente, rápida e confiável para a análise e separação das sementes de soja verde e não verde, promovendo uma precisão de 99,51% nas separações das amostras, como mostra um estudo realizado por Andrade *et al.* (2016). Ávila (2017) obteve resultados compatíveis entre aqueles gerados pelo sistema GroundEye e avaliações feitas de forma manual para comprimento de plântula e raiz. O presente estudo mostra que o GroundEye também pode fornecer informações sobre características geométricas e de coloração de calos, sendo uma forma prática e precisa de avaliação.

5 CONCLUSÃO

Os calos de explantes de folha, caule e raiz de batata-doce genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard se desenvolvem pouco em meios de cultura suplementados com nível alto de sacarose, como observado quando inoculados em meio de cultura com 120 mg L⁻¹ de sacarose. No entanto, o aumento da sacarose no meio proporcionou aumento na produção de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, atividade antioxidante e a concentração de sólidos solúveis em calos de explantes de folha, caule e raiz de batata-doce de polpa roxa e de polpa laranja (genótipo 2018-72-1407 e cultivar Beauregard, respectivamente). Dessa forma, a sacarose se apresentou como um elicitor de fácil acesso e baixo custo para produção de compostos bioativos em calos.

Levando em consideração a caracterização física dos calos, o equipamento GroundEye pode ser uma alternativa eficaz, rápida e prática para fornecer informações precisas de coloração e geometria. Avaliar essas características em calos é muito importante para pesquisadores da área de cultura de tecidos vegetais, podendo auxiliar na observação da natureza dos calos e formação de plântulas através da organogênese indireta.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, D. B.; OLIVEIRA A. S.; OLIVEIRA C. A. R. M.; SILVA M. A. S. Detection of green seeds in soybean lots by the seed analysis system (sas). **International Journal of Current Research**, [S.l.], v. 8, n. 1, p. 26462-26465, 2016.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of analysis of AOAC International**. 18. ed. Washington: AOAC, 2005.
- ÁVILA, M. A. B. **Análise de imagem na avaliação do potencial fisiológico de sementes de soja**. 2017. 42 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.
- BICHARA, N. **Dicas sobre o uso de densímetros e refratômetros**. 2014. Disponível em: <https://www.lamasbrewshop.com.br/blog/2014/05/dicas-sobre-o-uso-de-densimetros-e-refratometros.html>. Acesso em: 14 jan. 2021.
- CAMIRE, M. E.; KUBOW, S.; DONNELLY, D. J. Potatoes and human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [S.l.], v. 49, n. 10, p. 823-840, 2009.
- DHARMAPAL, S.; NAJLA, M.; SWETHA, E. S. Callus induction and organogenesis from *Tinospora formanii* Udayan and Pradeep: A rare endemic plant. **Tropical Plant Research**, [S.l.], v. 4, n. 1, p. 71-6, 2017.
- FAZAL, H. *et al.* Sucrose induced osmotic stress and photoperiod regimes enhanced the biomass and production of antioxidant secondary metabolites in shake-flask suspension cultures of *Prunella vulgaris* L. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, [S.l.], v. 124, n. 3, p. 573-581, 2016.
- FURLANETO, F. P. B.; FIRETTI, R.; MONTES, S. M. N. M. Comercialização, custos e indicadores de rentabilidade da batata-doce. 2012. **Pesquisa & Tecnologia**, [S.l.], v. 9, n. 2, jul./dez 2012.
- GIRI, A.; NARASU, M. L. Transgenic hairy roots: recent trends and applications. **Biotechnology Advances**, [S.l.], v. 18, n. 1, p. 1-22, 2000.
- GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In: WROLSTAD, R. E. (Ed.). **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: John Wiley, 2001.
- GÓMEZ-ZELEDÓN, J.; JIMÉNEZ, V. M. Producción in vitro de antocianinas-revisión. **Acta Biológica Colombiana**, [S.l.], v. 16, n. 1, p. 3, 2011.
- ISLAM, S. **Nutritional and medicinal qualities of sweetpotato tops and leaves**. University of Arkansas: Cooperative Extension Service, 2014.

KEHOE, S. H.; CHOPRA, H.; SAHARIAH, S. A.; BHAT, D.; MUNSHI, R. P.; PANCHAL, F.; YOUNG, S.; BROWN, N.; TARWANDE, D.; GANDHI, M.; MARGETTS, B. M.; POTDAR, R. D.; FALL, C. H. Effects of a food-based intervention on markers of micronutrient status among Indian women of low socio-economic status. **British Journal of Nutrition**, [S.l.], v. 113, n. 5, p. 813-821, 2015.

KRAUSE, W.; VIANA, A. P., CAVALCANTE, N. R.; AMBRÓSIO, M.; SANTOS, E. A.; VIEIRA, H. D. Digital phenotyping for quantification of genetic diversity in inbred guava (*Psidium guajava*) families. **Genetics and Molecular Research**, [S.l.], v. 16, n. 1, 2017.

NAMDEO, A. G. *et al.* Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. **Pharmacogn Rev**, [S.l.], v. 1, n. 1, p. 69-79, 2007.

NEPOMUCENO, C. F. **Propagação e conservação *in vitro* de *Martianthus leucocephalus* (MART. ex BENTH.) J.F.B. PASTORE.** 2012. 179 p. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, 2012.

PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário.** Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. ESALQ/USP, 2004. p. 1-10.

PINTO, C. A. G.; CARVALHO, M. L. M.; ANDRADE, D. B.; LEITE, E. R.; CHALFOUN, I. Image analysis in the evaluation of the physiological potential of maize seeds. **Revista Ciência Agronômica**, [S.l.], v. 46, p. 319-328, 2015.

POPOVA, M.; BANKOVA, V. S.; BUTOVSKA, D.; PETKOV, V.; NIKOLOVADAMYANOVA, B.; SABATINI, A. G.; MARCAZZAN, G. L.; BOGDANOV, S. **Phytochem Anal**, [S.l.], v. 15, n. 4, p. 235-40, Jul-Aug. 2004.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, [S.l.], v. 269, n. 2, p. 337-341, 1999.

ROBERTS, D. R. *et al.* The effects of inhibitors of polyamine and ethylene biosynthesis on senescence, ethylene production and polyamine levels in cut carnation flowers. **Plant and Cell Physiology**, [S.l.], v. 25, n. 2, p. 315-322, 1984.

RUBINOVICH, L. *et al.* Establishment of *Punica granatum* L. peel cell culture to produce bioactive compounds. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, [S.l.], v. 138, n. 1, p. 131-140, 2019.

SAE-LEE, N.; KERDCHOECHUEN, O; LAOHAKUNJIT, N. Enhancement of phenolics, resveratrol and antioxidant activity by nitrogen enrichment in cell suspension culture of *Vitis vinifera*. **Molecules**, [S.l.], v. 19, n. 6, p. 7901-7912, 2014.

SILVESTRINI, A. *et al.* Effects of alkaloid precursor feeding on a *Camptotheca acuminata* cell line. **Plant Physiology and Biochemistry**, [S.l.], v. 40, n. 9, p. 749-753, 2002.

WANG, Z.; ZHONG, J. Combination of conditioned medium and elicitation enhances taxoid production in bioreactor cultures of *Taxus chinensis* cells. **Biochemical Engineering Journal**, [S.l.], v. 12, n. 2, p. 93-97, 2002.

WATERHOUSE, A. L. Polyphenolics: determination of total phenolics. *In*: WROLSTAD, R. E. (Ed.). **Currente protocols in food analytical chemistry**. New York: John Wiley, 2002.

WOOLFE, J. A. **Sweet potato**: an untapped food resource. Cambridge: Cambridge University Press, International Potato Centre, 2008.