Efeito de concentrações de sacarose e de meio de cultura sobre a taxa de crescimento de Mandioca variedade BGM 0116 conservadas *in vitro*

Luciana Nogueira Londe[1], Kamila Antunes Alves[2], Emerson Brito Ribeiro[3]

Resumo - O presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito de concentrações de sacarose e de meio de cultura sobre a taxa de crescimento de mandioca variedade BGM 0116 conservadas *in vitro*. Os explantes foram estabelecidos em meio MS (100%, 50% e 25%) e cinco concentrações de sacarose (0, 10, 20, 40 e 80 $g.L^{-1}$), o delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 5 com 10 repetições. Foram avaliados altura das plantas, número de folhas vivas e mortas, número de ápices caulinares vivos e mortos e gemas. Avaliando-se a concentração de 80 $g.L^{-1}$ de sacarose em meio MS 50%, observou-se que esta combinação foi a mais responsiva à formação de gemas axilares. Da mesma forma, observou-se que o a ausência de sacarose ou 10 $g.L^{-1}$ em meio MS 25% proporcionou o menor desenvolvimento de calogênese nos explantes. O meio MS 100% com 10 $g.L^{-1}$ de sacarose proporcionou maior número de folhas formadas em vitroplantas de mandioca. O número de folhas vivas foi maior em meio MS 50% acrescido de 80 $g.L^{-1}$ de sacarose, sendo que em meio MS 100% 40 $g.L^{-1}$ de sacarose já proporcionou morte de folhas. Entretanto, a maior altura das plantas foi evidenciada em meio MS 50% com 20 $g.L^{-1}$ de sacarose e a maior quantidade de ápices formados foi verificada com 20 $g.L^{-1}$ de sacarose.

Palavras chave: *Manihot esculenta*, micropropagação, meio MS, carboidrato

Effect of various concentrations of sucrose and medium on the rate of growth of Cassava variety BGM 0116 conserved in vitro

Abstract - The present work aimed to study the effect of sucrose concentrations and culture media on the growth rate of cassava variety 0116 BGM preserved in vitro. The explants were established in test tubes containing 10 ml of three types of culture medium (100%, 50% and 25%) and five concentrations of sucrose (0, 10, 20, 40 and 80 gL^{-1}), delineation was completely randomized in a factorial 3 x 5 to 10 repetitions. We evaluated plant height, number of leaves and dead, number of live and dead shoot tips and buds. When we assessed the concentration of 80 g L^{-1} sucrose in 50% MS medium, it was found that this combination is the more positive the formation of axillary buds in cassava vitroplantas variety BMG 0116. Likewise, it was observed that the absence of sucrose to 10 gL^{-1} on MS medium under 25% afforded the callus developing on the explants. The 100% MS medium with 10 gL^{-1} sucrose caused a larger number of leaves formed in cassava vitroplants. The number of green leaves was higher in MS medium supplemented with 50% 80 g L^{-1} sucrose, and the MS 100 in sucrose 40gL^{-1} has provided death of sheets. However, the highest plant height was observed in 50% MS medium with 20 gL^{-1} sucrose and the largest number of apices formed was verified with 20 gL^{-1} sucrose.

Key words: *Manihot esculenta*, micropropagation, MS medium, carbohidrat

INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* L.) é uma das mais importantes culturas para produção de alimentos no mundo (Pereira, 1985; Fukuda et al., 2005). A mandioca é cultivada em todo país sendo que o Brasil é o segundo maior produtor mundial com 583,8 mil toneladas (CEPEA, 2009), onde o consumo de raízes *in natura* e de produtos industrializados da mandioca é a base da alimentação de milhões de pessoas, sendo a planta também utilizada na alimentação animal (Cardoso *et al*., 2004).

Segundo dados do Ibge (2009), o Estado do Pará tem mantido a posição de maior produtor nacional de mandioca nos últimos anos, chegando a produzir em 2009, cerca de

[1] D.Sc. Genética, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - Unidade Regional Norte de Minas, Rodovia MGT 122, km 155, Nova Porterinha – MG, 39.525-000. Telefone: (38) 3834-1760/ (38) 9156-1111. luciana@epamig.br

[2] Engenheira agrônoma. Universidade Estadual de Montes Claros. Bico da Pedra, Janaúba – MG, 39.440-000. Telefone (38) 9118-7071. kamiladavid@hotmail.com

[3] Técnico em química, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - Unidade Regional Norte de Minas, Rodovia MGT 122, km 155, Nova Porterinha – MG, 39.525-000. Telefone: (38) 3834-1760. britorib@hotmail.com

4.548.748 toneladas, enquanto Minas Gerais, o oitavo produtor, produziu no mesmo ano 56.806 toneladas. A produtividade dos estados, indicativo do nível tecnológico, não acompanha a produção total. Enquanto a média nacional foi, em 2009, de 13,86 t ha^{-1}, São Paulo apresentou o maior rendimento, com 24,01 t ha^{-1} produzidos, e Minas Gerais apresentou produtividade 15,21 t ha^{-1}.

Em Minas Gerais o cultivo da mandioca é tradicional, principalmente em pequenas propriedades. Há uma grande dinâmica entre os dez municípios maiores produtores, nos últimos anos, com municípios que em um ano são importantes produtores, mas que no ano seguinte não entram na lista dos dez principais. Em 2005 os dez principais produtores concentraram 22,3% da produção do estado.

Por ser uma cultura de relevante importância, o melhoramento genético se torna imprescindível para obtenção de cultivares mais significativas e resistentes promovendo, com isso, um aumento de produção. Visando o desenvolvimento de novas variedades ou até mesmo a recuperação de certas espécies, a conservação de germoplasma torna-se indispensável. Segundo (Faria & Bellotti, 2006), as coleções de germoplasma passam a ter papel fundamental nos programas de melhoramento.

Outro aspecto importante na conservação de germoplasma é o tipo de meio de cultura assim como concentrações de seus componentes, onde as plantas serão estabelecidas. Na cultura de tecidos, as concentrações de cada componente do meio de cultura são específicos para cada espécie. Varias modificações desses componentes são estabelecidas com intuito promover melhorias na conservação *in vitro* de plantas. Essas modificações visam principalmente à redução ou incremento de alguns componentes que podem promover um melhor crescimento em tecidos de mandioca. Os níveis de sacarose no substrato de cultivo *in vitro* influenciam vários processos metabólicos nas culturas, apresentando efeito sobre o crescimento e diferenciação dos tecidos (Fukuda, 2005).

O presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito de concentrações de sacarose e do meio de cultura sobre o crescimento *in vitro* de plantas de mandioca da variedade BGM 0116 (Cigana Preta).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados como material vegetal ápices de vitroplantas de *Manihot esculenta Crantz,* com 1,0 cm – 1,5 cm de tamanho, cultivadas *in vitro* no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. A variedade utilizada para os testes foi a BGM 0116 (Cigana Preta), cultivada na região do semiárido do Nordeste e Norte de Minas Gerais.

Os explantes foram estabelecidos *in vitro* em tubos de ensaio de 25 mm x 150 mm contendo 10 ml de três tipos de meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) (100%, 50%, 25%) e cinco concentrações de sacarose (0, 10, 20, 40 e 80 $g.L^{-1}$). Os meio foram solidificados com Ágar (8 g/L) e pH ajustado a 5,7. As culturas foram incubadas sob fotoperíodo de 12 horas, intensidade de luz 700 lux e temperatura de 22 ± 2 °C. Foram avaliadas as seguintes características: altura das plantas, número de folhas vivas e mortas, número de ápices caulinares vivos e mortos e gemas.

Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, onde os tratamentos foram em esquema fatorial 3x5, sendo três concentrações do meio de cultura e cinco níveis de sacarose, com 10 repetições para cada tratamento. Para a análise estatística, utilizou-se o programa computacional SISVAR 3.01. Realizou-se a Anava e adotou-se Regressão Linear a 5 % de probabilidade para comparação de médias entre os tratamentos.

Resultados e Discussão

Aos 30 dias do estabelecimento *in vitro* dos explantes foram analisados o número de gemas, calos, folhas vivas, folhas mortas, ápices vivos, ápices mortos e altura das plantas.

Os resumos da análise de variância para as características citadas estão apresentadas na Tabela 1

Tabela 1. Análise de variância para as características número de gemas, calos, folhas vivas, folhas mortas, ápices vivos, ápices mortos e altura das plantas na cultivar BMG 0116 em meio MS com diferentes proporções de sais e variação de sacarose.

		QUADRADOS MÉDIOS						
FV	**GL**	Gemas (un)	Calos (un)	Número folhas vivas (un)	Número folhas mortas (un)	Altura (cm)	Número ápices vivos (un)	Número ápices mortos(un)
Meio	2	8,04^{ns}	8,21*	1,18^{ns}	6,38^{ns}	158,52*	0,48^{ns}	3,54*
Sacarose	4	9,98^{ns}	8,91*	17,31*	9,77*	428,75*	1,46*	4,72*
Meio x Sacarose	8	38,47*	3,23*	7,04*	7,59*	83,42*	0,71^{ns}	1,85*
Resíduo	135	7,17	0,73	3,62	2,50	25,46	0,41	0,33

CV: 10,3 % ns: não significativo pelo teste *F* (P<0,05); FV: fonte de variação; GL : graus de Liberdade; CV

A variável número de gemas apresentou resultados satisfatórios para os diferentes tipos de meios e os níveis de sacarose, apresentando diferenças significativas quanto as concentrações de meios e de sacarose utilizados. Porém, a variável apresentou descréscimo significativo até a concentração de 10 g.L^{-1} de sacarose, no entanto à medida em que se aumentou a concentração de sacarose para 20 g.L^{-1} houve acréscimo no número de gemas formadas, e a concentração de 40 g.L^{-1} diminuiu a formação de gemas e a concentração de 80 g.L^{-1}, novamente, elevou a formação das gemas na cultivar BMG 0116 com número de 2 gemas observadas por explante. Em meio MS 50%, observou-se que à medida que aumentaram as concentrações de sacarose houve acréscimo de 0,625 gemas formadas, sendo que, aproximadamente 4 gemas foram formadas nesse meio com 80 g.L^{-1} de sacarose. Já em meio MS 25%, a maior formação de gemas foi evidenciada quando foi acrescido sacarose ao meio, com 3,5 gemas formadas. Um decréscimo na formação de gemas foi verificado na concentração de 10 g.L^{-1} de sacarose, a partir dessa concentração houve elevação na formação de gemas até a proporção de 80 g.L^{-1} de sacarose (Figura 1).

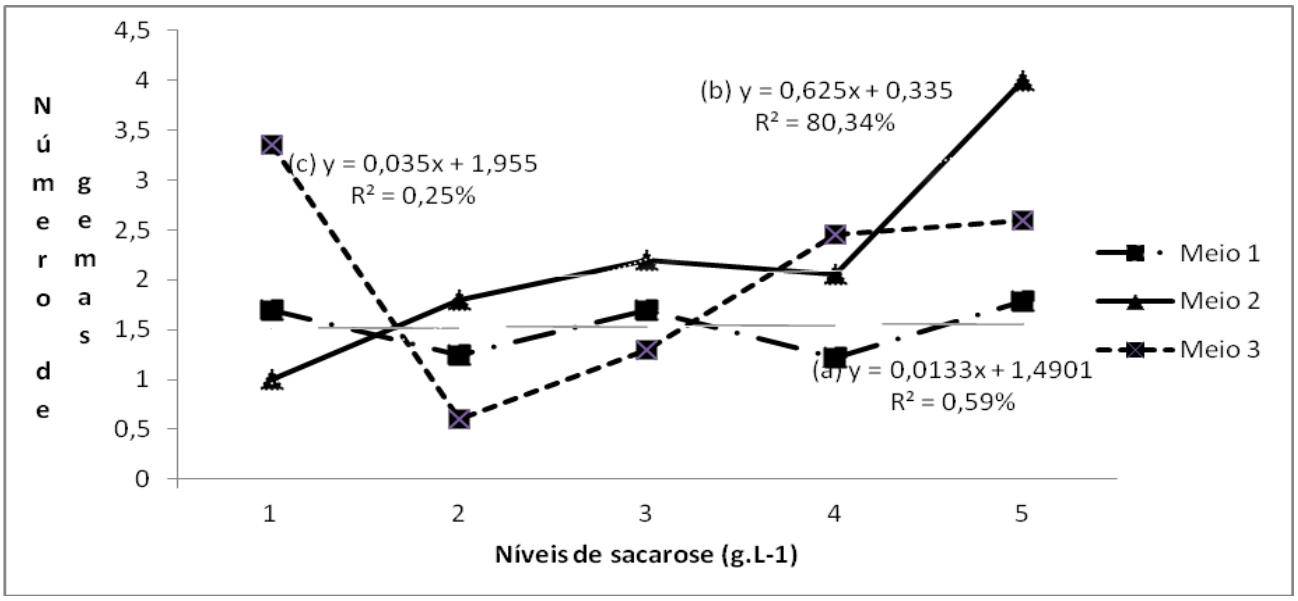


Figura 1. Regressão linear para o número médio de gemas formadas na conservação *in vitro* de mandioca *cv* BMG 0116 sob diferentes concentrações de meio MS e de sacarose (1 = ausência de sacarose, 2 = 10 $g.L^{-1}$, 3 = 20 $g.L^{-1}$, 4 = 40 $g.L^{-1}$ e 5 = 80 $g.L^{-1}$).

Considerando que a elevada pressão osmótica reduz o crescimento das plantas e afeta o metabolismo celular (Caldas et al., 1998), o aumento da concentração de sacarose no meio de cultura provavelmente promoveu um efeito depressivo no metabolismo das plântulas. A concentração de sacarose é um fator importante para um ótimo crescimento do explante. Segundo Grattapaglia & Machado (1998), a sacarose é a fonte de carbono mais utilizada nos protocolos de cultivo *in vitro*, sendo considerada a melhor fonte para a diferenciação celular e o desenvolvimento das microplantas. Em geral, a concentração de 30 $g.L^{-1}$ sustenta o desenvolvimento de brotações para a grande maioria das espécies já estabelecidas *in vitro*.

Para a variável número de calos também foi observado interação entre os meios e as concentrações de sacarose. Em meio MS 100% à medida em que se aumenta as proporções de sacarose, ocorre um acréscimo de 0,5 nos calos formados. Entretanto, a concentração de 40 $g.L^{-1}$ de sacarose apresentou a maior quantidade de calos formados, 2 por explante. A partir dessa concentração houve decréscimo no número de calos formados. Em meio MS 50% a formação de calos aumentou à medida em que foi elevado a proporção de sacarose, sendo que com 80 $g.L^{-1}$ de sacarose foi observado a maior formação de calos, aproximadamente 1,7 por explante. Em meio MS 25%, a maior formação de calos foi verificada em ausência de sacarose e com 80 $g.L^{-1}$ desse no meio, produzindo 2 calos por explante. Houve uma queda significativa no número de calos formados quando se acrescentou 10 $g.L^{-1}$ de sacarose ao meio, no entanto quando se adicionou maiores proporções de sacarose retornou a formação de calos até a concentração de 80$g.L^{-1}$ (Figura 2).

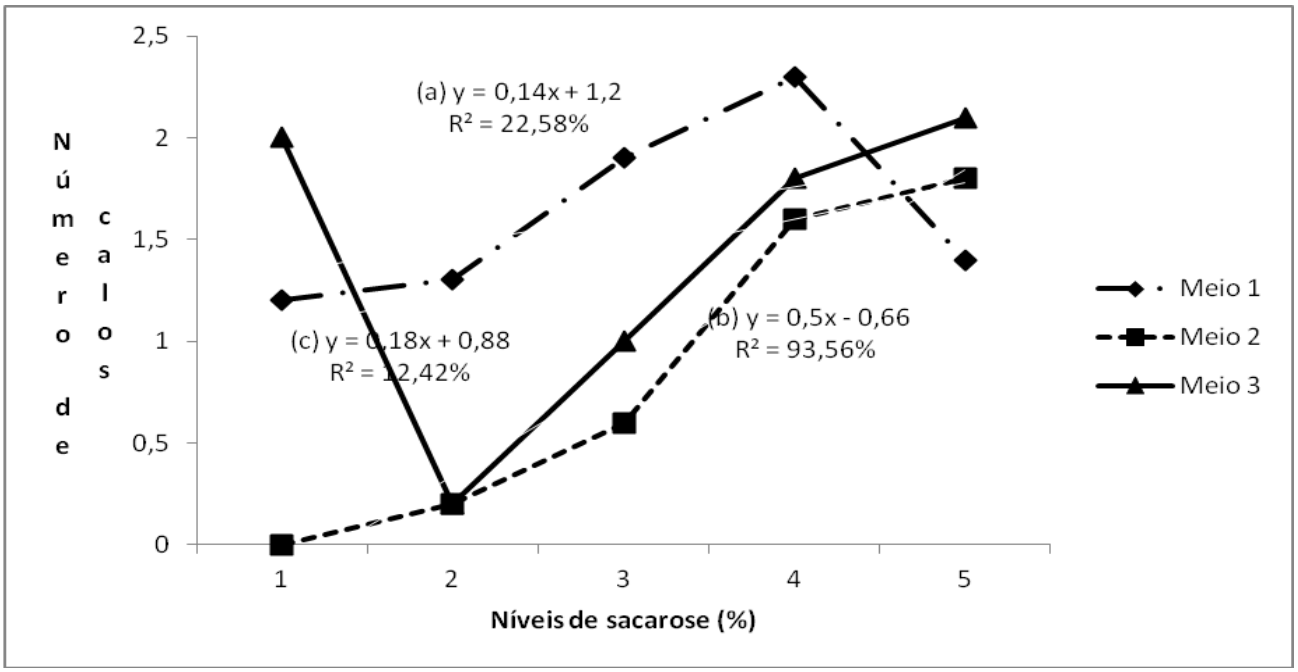


Figura 2. Regressão linear para o número médio de calos formadas na conservação *in vitro* de mandioca *cv* BMG 0116 sob diferentes concentrações de meio MS e de sacarose (1 = ausência de sacarose, 2 = 10 $g.L^{-1}$, 3 = 20 $g.L^{-1}$, 4 = 40 $g.L^{-1}$ e 5 = 80 $g.L^{-1}$).

Como a presença de calos não é um dos interesses na conservação *in vitro* de vitroplantas de mandioca verifica-se a partir dos resultados obtidos que a ausência de sacarose ou 10 $g.L^{-1}$ em meio MS 25% proporciona o menor desenvolvimento de calogênese nos explantes. Os calos formados proporcionam um desenvolvimento indireto dos explantes, dessa forma esses se desdiferenciam para, novamente, se rediferenciarem em respostas organogênicas como formação de brotações, raízes, gemas, além de propiciarem maior susceptibilidade à variações somaclonais na cultivar, o que também não é de interesse na conservação de um genótipo. Além disso, a menor concentração de sais MS utilizada acarreta em economia dos custos para a conservação *in vitro* do material em análise.

Tem sido relatada a possibilidade de reduzir a concentração de sais do meio MS, para diversas espécies, visando melhorar o desenvolvimento das plantas e à redução nos custos (George & Sherrington, 1984). Paiva et al. (1997) utilizaram 50% dos sais do meio MS, obtendo um bom desenvolvimento *in vitro* de gloxínia. Concentrações de sais no meio básico MS, reduzidas a 1/2, 1/3 ou 1/4, possibilitaram melhor enraizamento *in vitro* de amoreirapreta, cultivar 'Caiguangue' (Dantas et al., 2000). A concentração de sacarose também é um fator determinante no crescimento e é dependente do tipo de explante (Caldas et al., 1998). Além disso, afeta a produção de metabólitos secundários de grande importância nos processos metabólicos e na composição da parede celular (Pasqual, 2001). Estudos comprovaram que 75% a 85% do aumento da biomassa se devem à incorporação de carbono pela adição de sacarose (De Riek et al., 1997). A concentração mais utilizada no preparo do meio de cultura MS é 30 $g.L^{-1}$, entretanto, modificações nesse número podem beneficiar o cultivo *in vitro* (Pasqual, 2001). A sacarose mesmo sendo essencial ao crescimento das culturas *in vitro*, o seu excesso pode ser prejudicial, pois inibe a síntese de clorofila, reduzindo a capacidade fotossintética das culturas, mesmo sendo essencial ao crescimento (Yamada & Sato, 1978). Embora o açúcar não seja o componente de maior custo no preparo do meio de cultura, a redução de sua concentração pode ser economicamente favorável, especialmente para a produção comercial de mudas

(Hoffmann, 1999).

Para a variável número de folhas vivas, observou-se que o meio com o total das concentrações de sais MS, 10 g.L^{-1} de sacarose foi favorável à formação de folhas de mandioca, no entanto à medida em que se elevou as proporções de sacarose até 40 g.L^{-1}, houve decréscimo no número de folhas vivas formadas. A partir dessa concentração o número de folhas vivas foi estabilizado. Em meio MS 50% observou-se que as concentraçoões de sacarose favoreceram à multiplicação de folhas vivas, sendo que 80 g.L^{-1} de sacarose produziu, aproximadamente 6 folhas por explante. Em meio com 25% dos sais MS verificou-se que as concentrações de sacarose pouco influenciaram no desenvolvimento de folhas já que em todas as concentrações, a média de folhas formadas foi de 5 por explante (Figura 4).

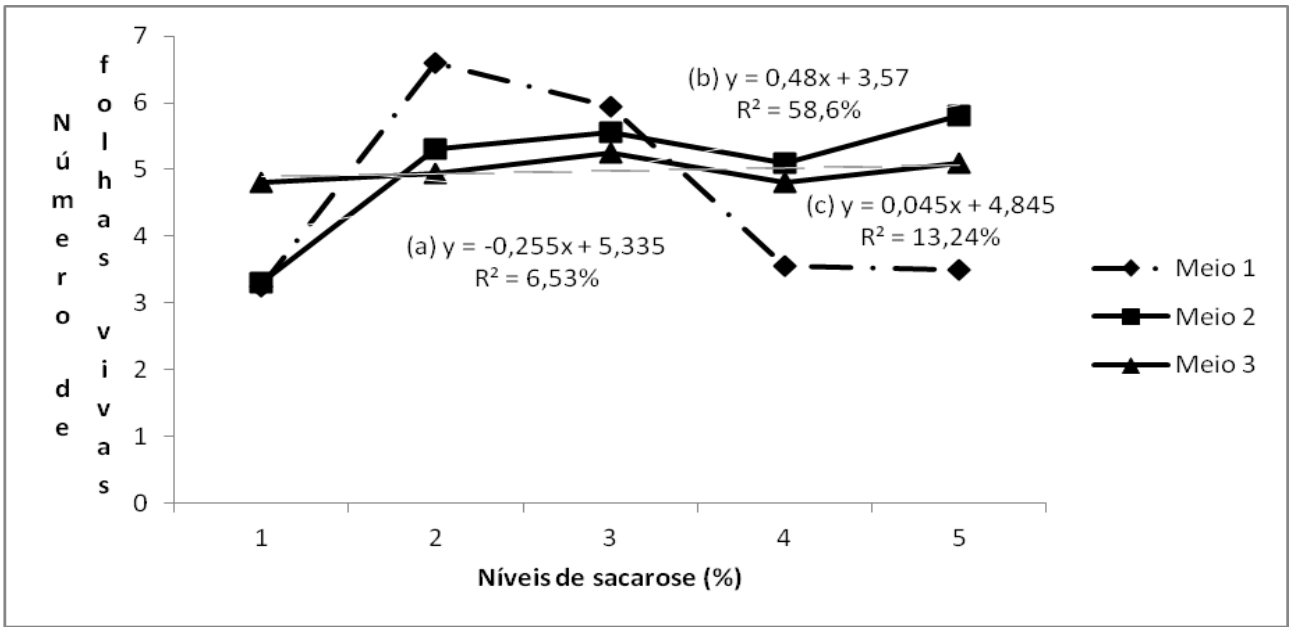


Figura 4. Regressão linear para o número médio de folhas vivas formadas na conservação *in vitro* de mandioca cv BMG 0116 sob diferentes concentrações de meio MS e de sacarose (1 = ausência de sacarose, 2 = 10 g.L^{-1}, 3 = 20 g.L^{-1}, 4 = 40 g.L^{-1} e 5 = 80 g.L^{-1}).

Lemos & Baker (1998) verificaram que a maltose, sorbitol, frutose e polietileno glicol, adicionados ao meio de cultura, não favoreceram o desenvolvimento das brotações de gravioleira, enquanto a sacarose, galactose e glicose induziram a formação de brotações adventícias nos explantes.

Relacionando os dados obtidos com o número de folhas vivas produzidos, a Figura 5 apresenta a confirmação dos dados obtidos anteriormente, visto que ocorre aumento no número de folhas mortas em meio 100%, 50% e 25% a partir da dose de 40 g.L^{-1} de sacarose em meio MS.

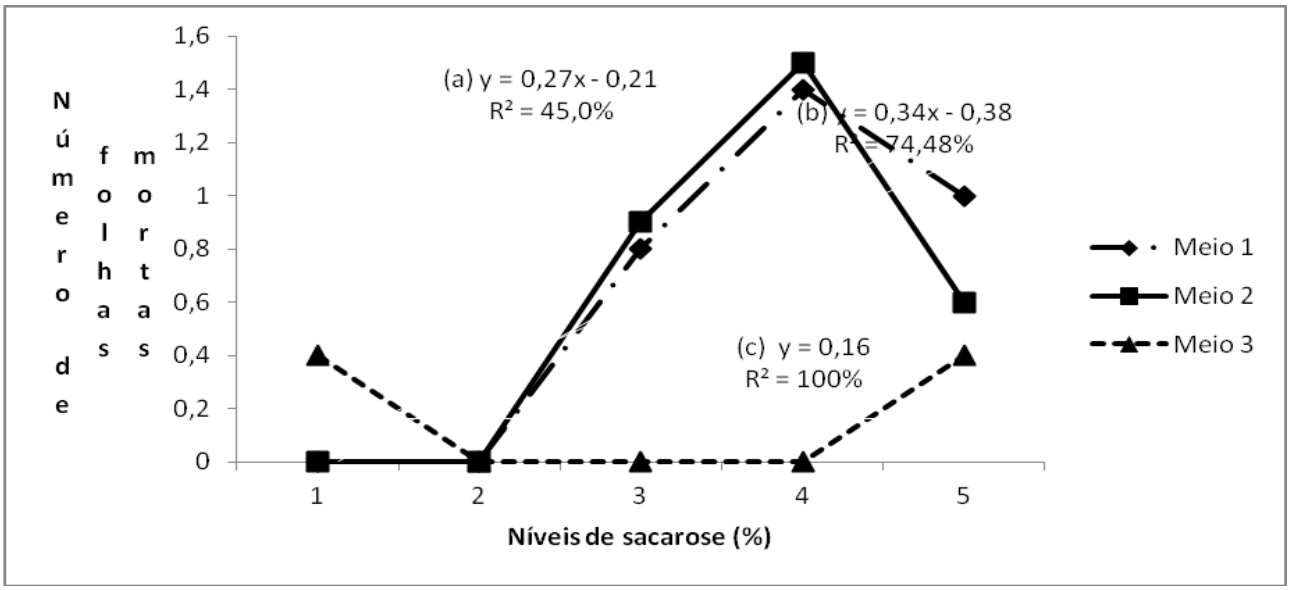


Figura 5. Regressão linear para o número médio de folhas mortas formadas na conservação *in vitro* de mandioca cv BMG 0116 sob diferentes concentrações de meio MS e de sacarose (1 = ausência de sacarose, 2 = 10 g.L^{-1}, 3 = 20 g.L^{-1}, 4 = 40 g.L^{-1} e 5 = 80 g.L^{-1}).

Portanto, elevadas concentrações de sacarose no meio levam à senescência dos explantes e consequentemente sua morte, o que pode estar relacionado com a diminuição da osmolaridade que a sacarose proporciona ao crescimento dos explantes.

Para a variável altura de brotações, observa-se que a concentração de 10 g.L^{-1} de sacarose favoreceu na altura de brotações com brotos de aproximadamente 8 cm e que apartir de 40 g de sacarose ocorreu decréscimo acentuado no número de brotações produzidas em meio MS. Em meio MS 50%, 20 g.L^{-1} de sacarose proporcionou a melhor altura de brotações, alcançando, aproximadamente 16 cm. A partir dessa concentração houve decrescimo na altura de brotos formados. Já em meio MS 25%, 20 g.L^{-1} de sacarose produziu, aproximadamente 10 brotos por explante e apartir dessa proporção houve decréscimo no número de brotos formados, no entanto, a concentração de 80g.L^{-1} de sacarose proporcionou brotos de aproximadamente 14 cm de altura (Figura 6).

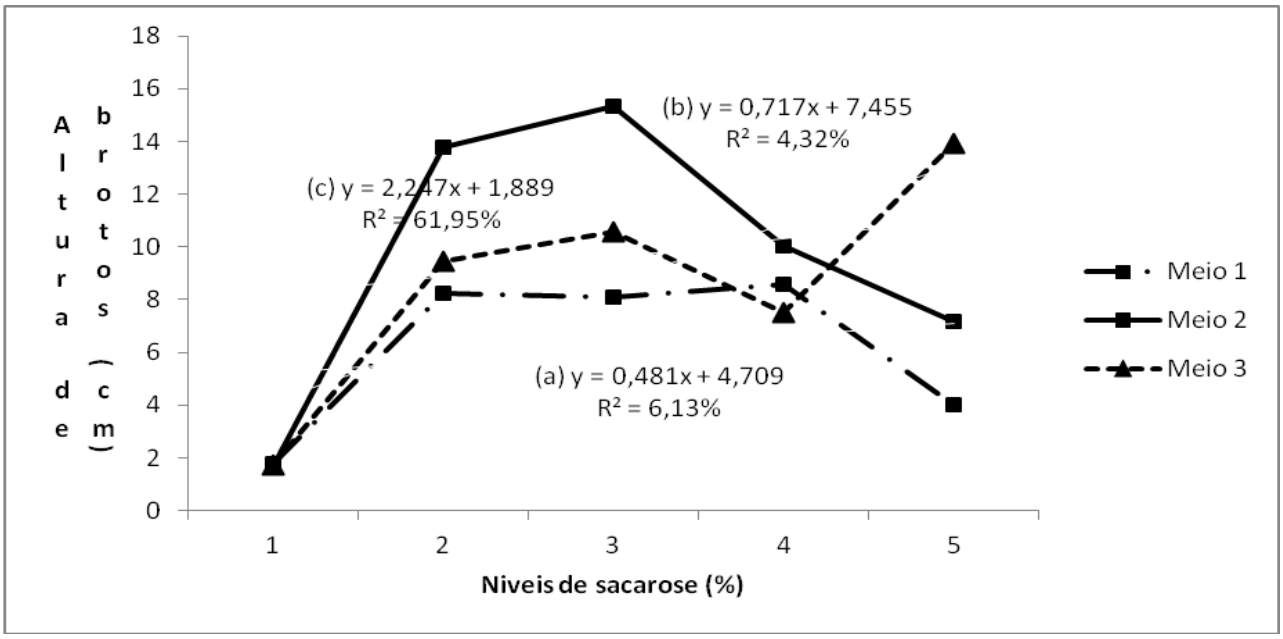


Figura 6. Regressão linear para altura média de brotações formadas na conservação *in vitro* de mandioca cv BMG 0116 sob diferentes concentrações de meio MS e de sacarose (1 = ausência de sacarose, 2 = 10 $g.L^{-1}$, 3 = 20 $g.L^{-1}$, 4 = 40 $g.L^{-1}$ e 5 = 80 $g.L^{-1}$).

Segundo Agra et al. (2009), trabalhando com violetas, observaram que para os resultados da análise de variância, houve efeito significativo das concentrações de sacarose sobre o número de brotações por explante. A concentração de 20 $mg.L^{-1}$ de sacarose proporcionou significativamente maior número de brotações por explante em relação a concentração de 10$mg.L^{-1}$ de sacarose, evidenciando que maiores doses de sacarose no meio de cultura favoreceram o aumento de brotações, corroborando com os dados obtidos nesse trabalho em meio MS com 25% de sais, sendo que nos demais meios de cultivo foi evidenciado menores formações de brotos à medida em que se aumentou a concentração de sacarose.

Nicoloso et al. (2003), compararam quatro concentrações de cinco fontes de carbono e a sacarose, nas concentrações de 30; 45 e 60 g L^{-1}, foi a melhor fonte de carboidrato para número e altura das brotações, média da altura de brotações e número total de segmentos nodais em ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata*). A concentração de 125% de sais do meio MS proporcionou maior número de brotos (2,14) em copo-de-leite. Paiva et al. (1996) observaram melhor desenvolvimento de brotos com concentrações entre 50% e 150% de sais do meio MS, combinados com 6% de sacarose. Na concentração de 50% do MS, o tamanho dos brotos obtidos não foi satisfatório. Naves (2001) verificou um aumento no tamanho dos brotos de bromélia-imperial (*Alcantarea imperialis*), até a concentração de 100% dos sais do meio MS. Com café 'Catuaí' (*Coffea arabica*), objetivando determinar o efeito de diferentes proporções dos sais inorgânicos e componentes orgânicos do meio MS, Forni; Pasqual (1996) observaram que o aumento dos níveis dos sais do meio MS proporcionou maior número de brotos, número de folhas e peso da matéria seca. Resultados contraditórios foram obtidos por Chang et al. (2003), com a espécie *Zantedeschia albomaculata* (copo-de-leite) que apresentou maior número de brotos (2,0) em meio MS com 50% dos sais.

O número de brotos foi estimulado pelo aumento da concentração de sais do meio MS e de sacarose, porém, não houve interação entre esses dois fatores. Maior número de brotos (3,5) foi observado em 30 $g.L^{-1}$ de sacarose, na presença de 5 $mg.L^{-1}$ de BAP. Concentrações maiores de sacarose promoveram diminuição no número de brotos, podendo estar relacionado ao fato de

que concentrações acima de 4 % de sacarose promovem excessivo potencial osmótico do meio e deterioração das culturas (Grattapaglia & Machado, 1998).

Para a variável número de ápices vivos, não houve interação entre os meios e as doses de sacarose utilizados. Observa-se que a concentração de 20 $g.L^{-1}$ de sacarose propiciou a melhor formação de ápices, produzindo, em média 1,6 ápices por explante (Figura 7). Com esse resultado observa-se que quanto mais próximo de 30 $g.L^{-1}$ melhores são as respostas morfogenéticas da mandioca, visto que essa concentração acima citada é a mais utilizada nos preparos de meios MS em diversas espécies.

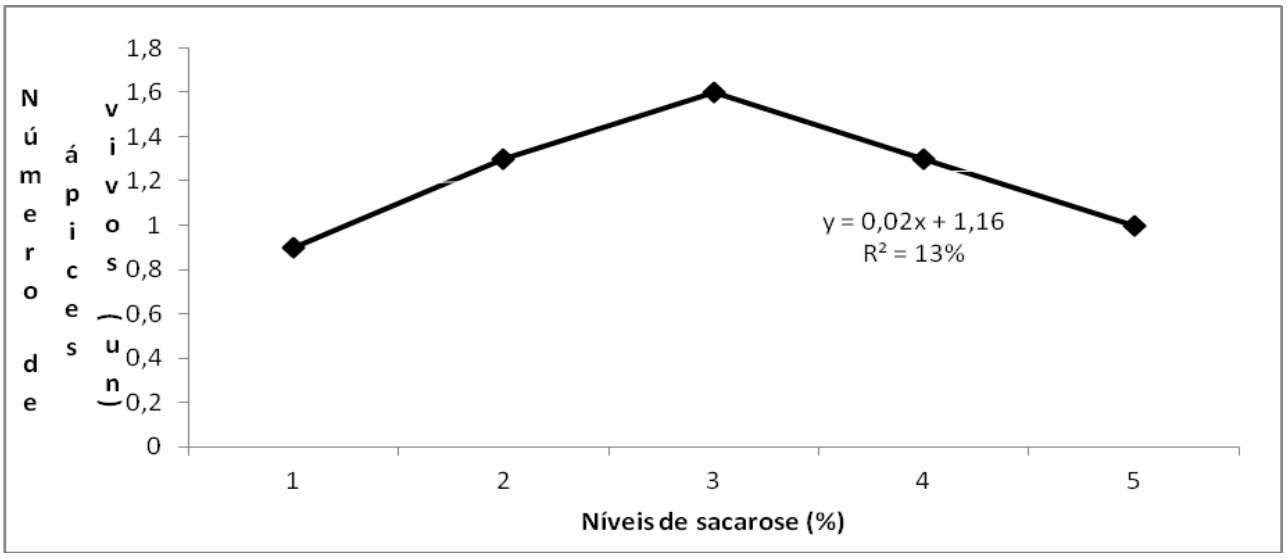


Figura 7. Regressão linear para o número médio de ápices vivos na conservação *in vitro* de mandioca cv BMG 0116 sob diferentes concentrações de meio MS e de sacarose (1 = ausência de sacarose, 2 = 10 $g.L^{-1}$, 3 = 20 $g.L^{-1}$, 4 = 40 $g.L^{-1}$ e 5 = 80 $g.L^{-1}$) .

Para a variável número de ápices mortos evidencia-se que o meio com a quantidade total de sais de MS favoreceu para a morte de ápices, prduzindo, aproximadamente 5 ápices mortos por explante, por outro lado o meio com 25% de sais MS proporcionou menor morte de ápices em mandioca (Figura 8).

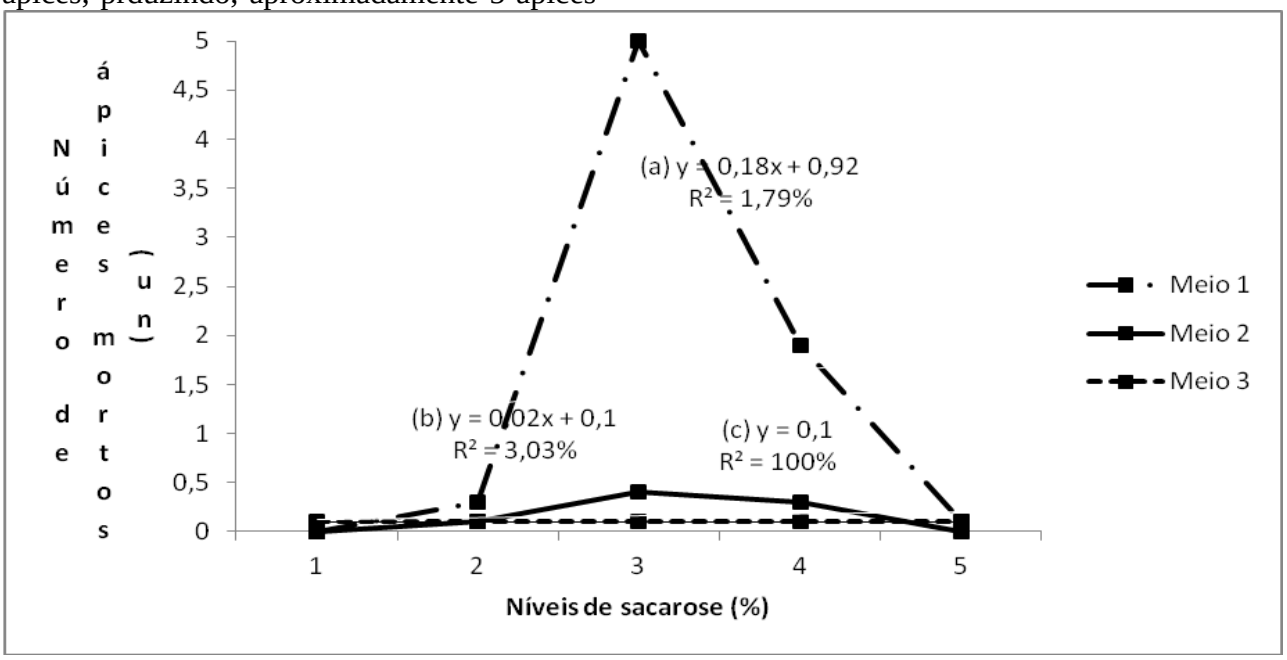


Figura 8. Regressão linear para o número médio de ápices mortos na conservação *in vitro* de mandioca cv BMG 0116 sob diferentes concentrações de meio MS e de sacarose (1 = ausência de sacarose, 2 = 10 $g.L^{-1}$, 3 = 20 $g.L^{-1}$, 4 = 40 $g.L^{-1}$ e 5 = 80 $g.L^{-1}$).

Dessa forma a diluição dos sais MS é favorável à manutenção dos ápices vivos de mandioca cv. BMG 0116 na conservação *in vitro*.

CONCLUSÕES

A concentração de 80 $g.L^{-1}$ de sacarose em meio MS 50% é a combinação mais indicativa à formação de gemas axilares nas vitroplantas de mandioca cv BMG 0116.

A ausência de sacarose ou 10 $g.L^{-1}$ em meio MS 25% proporciona o menor desenvolvimento de calogênese nos explantes.

O meio MS 100% com 10 $g.L^{-1}$ de sacarose proporcionou maior numero de folhas formadas em vitroplantas de mandioca.

O numero de folhas vivas foi maior em meio MS 50% acrescido de 80 $g.L^{-1}$ de sacarose, sendo que em meio MS 100% 40 $g.L^{-1}$ de sacarose já proporcionou morte de folhas.

A maior altura das plantas e evidenciada em meio MS 50% com 20 $g.L^{-1}$ de sacarose.

A maior quantidade de ápices formados é verificado com 20 $g.L^{-1}$ de sacarose.

Para a produção de mudas de mandioca da variedade BMG 0116 recomenda-se a utilização de 20 $g.L^{-1}$ de sacarose em meio MS 50% pois favorece à multiplicação de brotos.

AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, Conselho Nacional de Pesquisa – CNPq, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG e Empresa de Pesquisa Agropecuária Brasileira - EMBRAPA pelo apoio financeiro na realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

AGRA, P.F.M.; SANTOS, M.S.; BARROS, H.M.M.; COSTA, C.M.G.R.; COSTA, N.P.; PERAZZO, NETO, A. Influência de ambientes e concentrações de sacarose na micropropagação de violeta africana em diferentes tempos de cultivo. Tecnol. & Ciên. Agropec., v.3, p.73-76, 2009.

AL-KHARYRI, J.M.; AL-BAHIRANI, A.M. Callus growth and proline accumulation in response to sorbitol and sucrose-induced osmotic stress in rice. Biologia Plantarum, v. 45, p. 609 – 611, 2002.

ANDRADE, F.F.G.; BAHIA, J.J.S. Mandioca**,** 2009 Disponível em: <http://www.ceplac.gov.br/radar/mandioca.htm>. Acessado em: 26 de maio de 2011.

BORKOWSKA, B.; SZCZERBA, J. Influence of different carbon sources on invertase activity and growth of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) shoot cultures. Journal of Experimental Botany, v.42, p. 911-915, 1991.

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

CARDOSO, E.T.; SILVA, P.R.F.; ARGENTA, G.; GERHARD, L.F.; FORSTHOFFER, E.L.; SUHRE, E.; STRIDER, M.; TEICHMANN, L.L. Estabilidade e adaptabilidade do rendimento de raízes de Genótipos de mandioca em cinco ambientes do Rio Grande do Sul. 2007. Disponível em <http://www.cav.udesc.br/2004_1/estabilidade.pdf> Acessado em: 24 agosto 2011.

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA. 2010. (Cepeahttp://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/hortifruti/63745-censo-anual-fecula-mandioca.html)

CHANG, H.S. Micropropagation of Calla lily (*Zantedeschia albomaculata*) via *in vitro* shoot proliferation. *In vitro* Cellular & Developmental Biology – Plant, v.39, p. 129-134, 2003.

DANTAS, M.C.A. Enraizamento *in vitro* da amoreirapreta (*Rubus* sp.) cultivar Caigangue. Agropecuária de Clima Temperado, v.3, p.123-130, 2000.

DE RIEK, J.; PIQUERAS, A.; DEBERGH, P.C. Sucrose uptake and metabolism in a double layer system for micropropagation of *Rosa multiflora*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, v. 47, p. 269-278, 1997.

DUMET, D.; ENGELMANN, F.; CHABRILLANGE, N.; DUVAL, Y.; DEREUDDRE, J. Importance of source for the acquisition of tolerance to desiccation and cryopreservation of oil palm somatic embryos. Cryo-Letters London, v.14, p.243-250, 1993.

FAOSTAT. Production quantity (1000 tonnes) | Cassava (fresh and dried). 2009. Disposnível em : < http://faostat.fao.org/site/336/DesktopDefault.aspx?PageID=336> Acessado em: 12 dezembro de 2011.

FARIA, A.R.N.; BELLOTTI, A.C. Pragas e seu controle. In: SOUZA, L.S.; FARIAS, A.R.N.; MATTOS, P.L.P.; FUKUDA, W.M.G. (ed. técnicos). **Aspectos econômicos e agronômicos da mandioca.** 3ª edição**.** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura. 2006. 671p.

FARIA, G.A.; COSTA, M.A.P.C.; JUNGHANS, T.G.; LEDO, C.A.S.; SOUZA, A.S. Efeito da sacarose e sorbitol na conservação *in vitro* de *Passiflora giberti* N.E. Brown. Revista Brasileira de Fruticultura, v.28, p.267-270, 2006.

FARIA, J.L.C.; SEGURA, J. *In vitro* control of adventitious bud differentiation by inorganic medium components and silver thiosulfate in explants of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. In vitro cellular & developmental biology-plant, v.33, p. 209-212, 1997.

FERREIRA, M.G.R.; CÁRDENAS, F.E.N.; CARVALHO, C.H.S.; CARNEIRO, A.A.; DAMIÃO FILHO, C.F. Resposta de eixos embrionários de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum.) à concentração de sais, doses de sacarose e renovação do meio de cultivo. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 2, p. 246-248, 2002.

FORNI, R.C.; PASQUAL, M. Influência da citocinina BAP e concentrações dos componentes do meio MS na micropropagação do café 'Catuaí'. Ciência e Agrotecnologia, v.20, p. 468- 474, 1996.

FUKUDA, W.M.G.; CAVALCANTI, J.; FUKUDA, C.; COSTA, I.R.S. Variabilidade genética e melhoramento da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro. 2005. Disponível em: <http://www.cpatsa.embrapa.br/catalogo/livrorg/mandioca.pdf> Acessado em: 25 julho 2011.

GARCIA, J.L.; TRONCOSO, J.; SARMIENTO, R.; TRONCOSO, A. Influence of carbon source and concentration on the *in vitro* development of olive zygotic embryos and explants raised from them. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, v.69, p. 95-100, 2002.

GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. Plant propagation by tissue culture**.** Eversley: Exegetics, 1984. 709 p.

GEORGE, F.E. The components of culture media. In: GEORGE, F.E. (Ed). Plant propagation by tissue culture. 1993. p. 273-343.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.Á. (Eds) Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília, Embrapa-CNPH; CBAB. 1998. p. 183-260.

HOFFMANN, A. (1999) Enraizamento e aclimatização de mudas micropropagadas dos porta-enxertos de maceira 'Marubakaido' e 'M-26'Tese (Doutorado em Fitotecnia) – 1999. 240 f. Universidade Federal de Lavras.

HU, C.Y.; FERREIRA, A.G. Cultura de embriões IN: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Eds) Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**.** Brasília: Embrapa- SPI / Embrapa- CNPH. 1998. p 371- 393.

IBGE. Produção brasileira de mandioca em 2009. 2009 Disponível em: < http://www.cnpmf.embrapa.br/planilhas/Mandioca_Brasil_2009.pdf>. Acessado em: 12 dezembro. 2011.

LEMOS, E.E.P.; BAKERMM, D. Shoot regeneration in response to carbon source on internodal explants of *Annona muricata* L. Plant Growth Regulation, v.25, p.105-112, 1998.

MELLO, O.M.; DIAS, C.T.S.D.; AMARAL, A.F.C.; MELO, M. Growth of *Bauhinia forficata* Link, *Curcuma zedoaria* Roscoe and *Phaseolus vulgaris* L. cell suspension culture whith carbon sources. Sciencia Agrícola, v.58, p.1-11, 2001.

NAVES, V.C. Propagação *in vitro* da bromélia imperial [*Alcantarea imperialis* (Carriére) Harms]. 2001. 64 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras.

NICOLOSO, F.T. Efeito de concentrações e fontes de carboidratos no crescimento de plantas de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) cultivadas *in vitro*. Ciência e Agrotecnologia, v.27, p. 84-90, 2003.

PAIVA, P.D.O. Propagação *in vitro* de gloxínia. Revista Brasileira de Horticultura Ornamental, v. 3, p. 29-41, 1997.

PAIVA, P. D.O.; PASQUAL, M.; PAIVA, R. Efeito de diferentes concentrações do meio MS, nitrogênio e sacarose na micropropagação de crisântemo 'Orange Reagen'. Bragantia, v.55, p.9-18, 1996.

PAIVA, P.D.O.; PASQUAL, R.P.; PAIVA, L.V. Estabelecimento *in vitro* de estrelícia (*Strelitzia reginae* Banks.). Ciência Agrotécnica, v.28, p.1031-1037, 2004.

PASQUAL, M. Meios de cultura. In: PASQUAL, M. (Eds) Cultura de tecidos vegetais. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. v. 1, 74 p.

PEREIRA, A.S.; LORENZI, J.O.; VALLE, T.L. Avaliação do tempo de cozimento e padrão de massa cozida em mandioca de mesa. Revista Brasileira de Mandioca, v.4, p.27-32, 1985.

PESSOA, C.C. Propagação *in vitro* de *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott. **C**aderno de Pesquisa Série Biologia, v.16, p. 43-49, 2004.

RIBEIRO, M.N.O.; PASQUAL, M.; BORTOLOTTI, A.S.; RODRIGUES, V.A. Diferentes concentrações de sais do meio MS e de sacarose na multiplicação *in vitro* de *Zantedeschia aethiopica* L. Spreng. (copo-deleite) Revista Ciência Agronômica, Fortaleza, v. 39, p. 101-106, 2008.

RIBEIRO, L.M.; NEVES, S.C.; SILVA, P.O.; ANDRADE, I.G. Germinação de embriões zigóticos e desenvolvimento *in vitro* de coquinho- Revista Ceres, v. 58, p.133-139, 2011.

SILVA, S.O.; SHEPHERD, K.; DANTAS, J.L.L.; SOUZA, A.S.; CARNEIRO, M.S. Germoplasma. In: ALVES, E.J. (org.) A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais. Embrapa-CNPMF, Brasília. 1997. 184p.

VEIERSKOV, B.; ANDERSEN, A.S.; ERIKSEN, E.N. Dynamics of extractable carbohydrates in *Pisum sativum*. 1- Carbohydrate and nitrogen content in peã plants and cuttings grown at two different irradiances. Physiologia Plantarum, v.55, p.167-173, 1982.

VILLA, F. Multiplicação *in vitro* da amoreira-preta 'Ébano' em diferentes concentrações de meio MS e BAP. Ciência e Agrotecnologia, v. 29, p.582-589, 2005.

YAMADA, Y.; SATO, F. The photoautotrophic culture of chlorophyllous cells. Plant Cell Physiolog**y**, v. 19, p. 691-699, 1978.