

MICROPROPAGAÇÃO “IN VITRO” DE YACON (*Smallanthus sonchifolius*)“IN VITRO” MICROPROPAGATION OF YACON (*Smallanthus sonchifolius*)Marcelo Alvares de OLIVEIRA¹Viviane Scarmínio BUSARCA²**RESUMO**

O yacon é uma tuberosa que apresenta características peculiares que podem ser aproveitadas na agregação de valor da espécie, aumentando a renda agrícola de muitos produtores rurais. Introduzida pela colônia japonesa no Brasil por volta de 1989, é utilizada na medicina popular contra diabetes e níveis elevados de colesterol no sangue. O objetivo deste trabalho foi obter a micropropagação de yacon, a partir de gemas de rizóforos e gemas axilares, para atender à demanda desta espécie para futuros plantios comerciais, frente às vantagens que a técnica proporciona. Os meios de cultura avaliados para desenvolvimento de gemas de rizóforos e gemas axilares foram o MS; MS com a adição do regulador vegetal BAP (6-benzilaminapurina) e NAA (ácido naftalenoacético) e combinações. O melhor meio para desinfestação de gemas dos rizóforos foi: a lavagem dos rizóforos em água corrente; retirada das gemas dos rizóforos com espátula; desinfecção das gemas com benomyl (1,5g.L⁻¹) durante 30 minutos; imersão das gemas em álcool (70%) por 15 segundos; imersão em hipoclorito de sódio (60%) durante 30 minutos e 3 lavagens com água destilada estéril. Já para gemas axilares o melhor método foi: a lavagem das gemas axilares em água corrente; imersão em hipoclorito de sódio (20%) durante 20 minutos; 3 lavagens com água destilada estéril. Em relação ao meio de cultura para micropropagação por meio de gemas de rizóforos, o MS com a adição de 2 mg.L⁻¹ do regulador vegetal BAP foi o melhor, visto que proporcionou uma taxa de pegamento de 53,33%. Já para gemas axilares, o MS com a adição de 0,5 mg.L⁻¹ del BAP apresentou uma taxa de pegamento inicial de 40%. Com o subcultivo de material pré-existente no laboratório de cultura de tecidos verificou-se que essa porcentagem de pegamento aumentou para 76,67%.

Palavras-chave: *Smallanthus sonchifolius*, cultura de tecidos, cultura “in vitro”, desinfestação.

SUMMARY

Yacon is a tropical root used in special markets, mainly in treatments of high cholesterol and diabetes. The roots are eaten “in natura” and taste similar to melon or pear. This plant was introduced in Brazil by the Japanese colony in 1989. This work had the purpose to set up the micropropagation of yacon, through rizophore buds and microstakes, observing the efficacy of asepsis processes and cultivation medium in micropropagation. The mediums utilized were MS with and without the addition of plant

¹ Pesquisador Doutor CERAT/UNESP/Botucatu – Fazenda Experimental Lageado, s/n Caixa Postal 237 CEP:18603-970 Botucatu/SP. e-mail: maoliveira@fca.unesp.br

² Bolsista PIBIC/Reitoria 2003/2004 CERAT/UNESP/Botucatu.

growth regulators BAP (6-benzylaminopurine) and NAA (1-naphthaleneacetic acid) and combinations of them. The best kind of asepsis protocol for micropropagation starting from rhizomes was: wash of the rhizomes in water; removal of buds with spatula; disinfection of the buds with benomyl (1,5g.L-1) for 30 minutes; immersion of the buds in alcohol (70%) for 15 seconds; immersion in sodium hypochlorite at 60% v/v during 30 minutes and 3 washes with sterile distilled water. As for micropropagation starting from microstakes, the best protocol was: wash of the microstakes in water; immersion in sodium hypochlorite at 20% v/v during 30 minutes and 3 washes with sterile distilled water. The best medium for micropropagation through rhizome buds was MS added with 2 mg.L-1 of the hormone BAP, which provided 53.33% rate of success. As for microstakes, the best medium for micropropagation was MS added with 0.5 mg.L-1 of BAP, with 40% rate of success. With the utilization of microstakes of the plants developed "in vitro", the rate of success increase to 76.67%.

Keywords: *Smallanthus sonchifolius*, tissue culture, "in vitro" culture, disinfection.

1. INTRODUÇÃO

As plantas tuberosas tropicais possuem importância que pode ser evidenciada em três aspectos: cultivo de subsistência, cultivos de importância étnica ou cultural e cultivo de importância econômica. Uma mesma espécie pode apresentar diferentes formas de valorização, em diferentes países ou regiões do mundo (Cereda et al., 2002).

O yacon é uma tuberosa que apresenta características peculiares que podem ser aproveitadas na agregação de seu valor, aumentando a renda agrícola de muitos produtores rurais. Esta planta atua na diversificação da produção agrícola, em nichos de mercados específicos ou ainda não explorados.

A planta está inserida no gênero *Polymnia* (Compositae, Helianthae), subtribo Melapodinae, gênero estabelecido por Linnaeus em 1751 e sustentado por estudos realizados por Wells (1965) citado por Robles (2000). Uma perspectiva diferente foi adotada por Robinson

(1979) citado por Grau & Rea (1997) que estudou os gêneros *Polymnia* e *Smallanthus*, classificando o yacon como *Smallanthus sonchifolius*. A grande maioria dos artigos científicos concorda com o nome científico do yacon de *Polymnia sonchifolius* (Robles, 2000).

Esta tuberosa é natural das regiões andinas e foi introduzido como cultivo comercial no Brasil em 1991, em Capão Bonito – São Paulo (Vilhena, 1997). Muito antes da invasão espanhola, os nativos andinos cultivavam o yacon nas encostas orientais dos Andes, um dos sistemas montanhosos mais importantes do mundo, estendendo-se desde o norte da Bolívia até o centro do Peru, onde se pode encontrar grandes quantidades de associações de plantas (Grau, 1997a, Holle, 1997 citado por Robles, 2000). É uma espécie de rápido desenvolvimento e extremamente adaptável quanto ao clima, altitude e tipo de solo. Apesar de sua origem andina, em altitudes de 900 a 3500m na Bolívia, Peru e Equador, e 600 a 2500m no noroeste da Argentina, é cultivada na Nova Zelândia ao nível do mar, e no Brasil em

altitudes entre 750 e 850m no Estado de São Paulo (Kakihara, 1996; Vilhena 1997).

De acordo com Nieto (1991), a propagação do yacon pode se dar tanto por sementes (propagação sexuada), como por rizóforo (propagação vegetativa). Entretanto, os clones introduzidos na Europa, Novos Zelândia, Japão e Brasil, não produzem sementes viáveis e propagam-se por meio dos rizóforos.

Os oligossacarídeos do tipo inulina presentes no yacon têm despertado, grande interesse na indústria alimentícia como adoçante alternativo para a sacarose, e como alimento funcional, apresentando ações benéficas à saúde, pois estimulam o desenvolvimento de bifidobactérias no intestino humano. Apresentam baixo valor calórico (1 a 3 KCal/g), são anticariogênicos e passam pelo trato digestivo sem serem metabolizados, interessando também à indústria farmacêutica (Vilhena, 2001). Hirayama et al. (1993) também observaram o efeito que os frutanos exercem na queda dos níveis de colesterol, além de comprovarem o efeito favorável na diminuição do teor de glicose no sangue.

Quando cultivada comercialmente, deve-se ter em mente o destino da produção: se o interesse for o consumo das raízes "in natura", estas devem apresentar um sabor mais adocicado, o que ocorre com a maior concentração de açúcares livres em colheitas tardias; entretanto, se o objetivo for a extração de frutoligossacarídeos para utilização na indústria farmacêutica ou de alimentos, a colheita deve ser realizada antes que ocorra a despolimerização das cadeias dos

frutoligossacarídeos (Oliveira & Nishimoto, 2004).

A técnica de micropropagação torna possível a intensificação da multiplicação de espécies vegetais, viabilizando igualmente, a possibilidade de encurtamento do ciclo vegetativo devido à ação de reguladores vegetais empregados nos meios de cultura (Tombolato et al., 1998).

A conservação de coleções ativas de germoplasma "in vitro" constitui alternativa de reconhecidos méritos e vantagens sobre a conservação a campo, principalmente para espécies que requerem renovações anuais ou bianuais da coleção, como é o caso do yacon. A tecnologia da micropropagação é valiosa na manutenção e propagação de genótipos de interesse, tendo em vista que os protocolos utilizados permitem alta frequência de multiplicação de plantas e "limpeza" do material, tornando essa técnica viável como meio de produção de plantas de alta qualidade (Giacometti, 1990).

Dentre os principais problemas da propagação vegetativa de espécies que produzem raízes tuberosas estão a dificuldade de conservação do material de plantio, disseminação de pragas e doenças e pequena capacidade multiplicativa. O yacon apresenta como estruturas utilizadas para a multiplicação os rizóforos, os quais no Brasil normalmente são contaminados por nematóides do gênero *Meloidogyne*, diminuindo em muito o potencial produtivo da planta e tornando várias raízes inviáveis para a comercialização (Kaikara et al., 1996).

Lima et al. (2002) avaliaram o efeito dos reguladores vegetais BAP (benzilaminopurina) e NAA (ácido naftalenoacético) na morfogênese “in vitro” de explantes isolados a partir de gemas axilares e apicais de mandioca e afirmaram que o BAP na concentração de $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ promoveu a formação de calos maiores e mais friáveis enquanto o NAA na concentração de $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$ propiciou a formação de brotos em explantes de mandioca.

Madeira et al. (2005) avaliaram a diferentes concentrações de BAP ($0,1$ a $0,4 \text{ mg.L}^{-1}$) no desenvolvimento “in vitro” de ápices caulinares de mandioquinha-salsa e verificaram que à medida em que se aumentou a concentração do regulador vegetal ocorreu uma diminuição na altura das plantas, porém com maior número de brotações.

Assim, o objetivo deste trabalho foi definir o melhor método de assepsia para micropropagação de yacon, assim como testar a ação do BAP e NAA para obtenção de brotações (plantas), a partir de gemas de rizóforos e gemas axilares.

2. METODOLOGIA

Foram utilizados rizóforos para retirada das gemas e microestacas provenientes de propágulos vegetativos obtidos dos canteiros experimentais instalados no CERAT/UNESP/Botucatu.

Para elaboração dos meios de cultura realizou-se um ensaio prévio para a avaliação da concentração de ágar. O meio de cultura utilizado foi o Murashige & Skoog (1962), com a

adição dos reguladores vegetais BAP (6-benzilaminopurina) e NAA (ácido naftalenoacético), em concentrações definidas durante os experimentos.

As etapas para definição dos protocolos foram: definir as formas e tamanhos de propágulos do yacon, a concentração e o tempo de exposição dos propágulos aos agentes de desinfestação e desinfecção; avaliar as concentrações de NAA e BAP nos meios de cultura MS para melhor desenvolvimento dos propágulos; avaliar as porcentagens de pegamento dos propágulos nos meios de cultura, avaliando-se, porcentagem de contaminação fúngica ou bacteriana e porcentagem de oxidação.

2.1. Micropropagação a partir de gemas de rizóforos

As plantas de yacon foram colhidas todas de uma vez (junho de 2004) e os meios de cultura para desenvolvimento de gemas de rizóforo foram: MS; MS + $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP; MS + 2 mg.L^{-1} de BAP; MS + 2 mg.L^{-1} de NAA; MS + 2 mg.L^{-1} de NAA + 2 mg.L^{-1} de BAP.

O método utilizado para limpeza e seleção do material foi: lavagem dos rizóforos em água corrente, por cerca de 5 minutos, sob escovação dos mesmos com escovinha de cerdas macias; retirada das gemas dos rizóforos com espátula; desinfecção das gemas com benomyl ($1,5 \text{ g.L}^{-1}$) durante 30 minutos; imersão das gemas em álcool (70%) por 15 segundos; imersão em hipoclorito de sódio (60%) durante 30 minutos e 3 lavagens com água destilada estéril.

Com o protocolo de micropropagação acima, avaliou-se qual o melhor meio de cultura

a fim de se obter o melhor desenvolvimento das gemas de rizóforos. Foram inoculados 15 tubos de ensaios com gemas de rizóforo de cada tratamento.

2.2. Micropropagação a partir de gemas axilares

Foram retiradas 60 gemas axilares de plantas dos canteiros experimentais em 19/02/2004 para instalação do primeiro ensaio, utilizando-se três meios de cultura diferentes. O protocolo utilizado para limpeza e seleção do material foi: lavagem das gemas axilares em água corrente, por cerca de 5 minutos; imersão em hipoclorito de sódio (60%) durante 20 minutos; 3 lavagens com água destilada estéril.

Não se utilizou desinfecção dos propágulos com benomyl, pois se verificou que a utilização do mesmo causava queima nas estacas, mesmo em baixa concentração. Os três meios de cultura avaliados foram: MS; MS + 2mg.L⁻¹ de NAA; MS + 2 mg.L⁻¹ de BAP.

Em um segundo experimento, a concentração e o tempo de exposição das gemas axilares foram diminuídos (hipoclorito de sódio (20%) por 20 minutos). Várias combinações de BAP e NAA foram avaliadas, para se obter os melhores resultados de desenvolvimento das plantas de yacon a partir de gemas axilares. Os meios utilizados foram: MS; MS + 0,5mg.L⁻¹ NAA; MS + 1,0mg.L⁻¹ NAA; MS + 2,0mg.L⁻¹ NAA; MS + 0,5mg.L⁻¹ BAP; MS + 1,0mg.L⁻¹ BAP; MS + 2,0mg.L⁻¹ BAP; MS + 0,5mg.L⁻¹ NAA + 0,5mg.L⁻¹ BAP; MS + 1,0mg.L⁻¹ NAA + 1,0mg.L⁻¹ BAP; MS + 2,0mg.L⁻¹ NAA + 2,0mg.L⁻¹ BAP.

Em um terceiro ensaio, após a definição do meio de cultura ideal para a micropropagação do yacon a partir de gemas axilares, avaliou-se a porcentagem de pegamento de 30 explantes subcultivados de plantas de cultura de tecidos, sendo a avaliação feita após 30 dias.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração de ágar de 8g.L⁻¹ promoveu os melhores resultados no desenvolvimento das plantas. Meios de cultura com concentrações elevadas de ágar, além de causarem problemas de rachadura no meio, dificultaram o desenvolvimento das plantas.

3.1. Micropropagação a partir de gemas intumescidas de rizóforos

Os resultados obtidos para avaliação das concentrações dos reguladores vegetais BAP e NAA mostraram que as gemas de rizóforos inoculadas em meio MS + 0,5mg.L⁻¹ de BAP, em MS + 2 mg.L⁻¹ de NAA e em meio MS + 2mg.L⁻¹ de NAA + 2mg.L⁻¹ de BAP não se desenvolveram. Já as gemas de rizóforos inoculadas em MS sem reguladores vegetais desenvolveram-se, porém de forma lenta e com formação de calos. Em algumas plantas ocorreu a formação de raízes. No entanto, gemas inoculadas em MS contendo 2mg.L⁻¹ de BAP apresentaram um bom desenvolvimento (Tabela 1).

O meio de cultura MS contendo 2mg.L⁻¹ de BAP promoveu o desenvolvimento de 53,33% de plantas com formação de raízes e o meio MS sem a adição de reguladores vegetais

apresentou 20% de plantas desenvolvidas. Os demais meios de cultura não foram eficientes para a inoculação de gemas do rizóforo, pois não permitiram a formação de plantas com raízes.

Tabela 1 – Desenvolvimento de gemas de rizóforos de yacon (%), em cinco meios de cultura após 30 dias de inoculação.

| Meios | N° tubos | Calos (%) | GN (%) | GD (%) | GF (%) |
|--|----------|-----------|--------|--------|--------|
| MS | 15 | 40,00 | 26,67 | 20,00 | 13,33 |
| MS + 0,5 mg.L ⁻¹ de BAP | 15 | ----- | 100,00 | ----- | ----- |
| MS + 2 mg.L ⁻¹ de BAP | 15 | 13,33 | 20,00 | 53,33 | 13,33 |
| MS + 2 mg.L ⁻¹ de NAA | 15 | 20,00 | 53,33 | ----- | 26,67 |
| MS + 2 mg.L ⁻¹ de NAA + 2 mg.L ⁻¹ de BAP | 15 | ----- | 100,00 | ----- | ----- |

* Descartes

GN→ Gemas não desenvolvidas;

GD→ Gemas Desenvolvida com formação de raízes;

GF→ Gemas com presença de fungos;

3.1. Micropropagação a partir de gemas axilares

Foram retiradas gemas axilares de plantas em desenvolvimento dos canteiros experimentais do CERAT/UNESP/Botucatu (Figura 1). As mesmas foram divididas em três lotes de 20 gemas e inoculadas nos meios de

cultura dia 19/02/2004. As gemas axilares são mais sensíveis ao desinfetante e verificou-se a queima superficial de alguns explantes devido à alta concentração do hipoclorito. A avaliação ocorreu dia 26/02/2004 e os resultados estão expressos na Tabela 2.

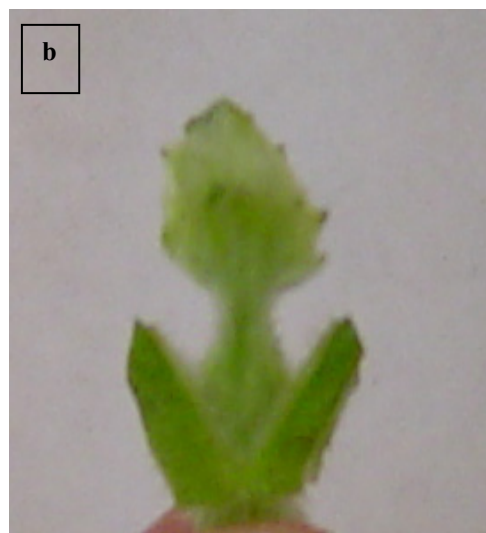


Figura 1. a) Gemma axilar retirada de uma planta de yacon ; b) gemma apical utilizada para inoculação em meios de cultura.

O melhor meio de cultura foi o MS sem a adição de qualquer regulador vegetal, visto que após 7 dias de inoculação apresentou 50% de

gemas desenvolvidas. Estas plantas foram acompanhadas por até 30 dias (Tabela 2).

Tabela 2. Desenvolvimento de gemas axilares de yacon (%), em três meios de cultura após 7 dias de inoculação.

| Meios | Nº tubos | GCF | GCFB | GND | GD |
|----------------------------------|----------|------|-------|-------|-------|
| MS | 20 | --- | 20,00 | 30,00 | 50,00 |
| MS + 2mg.L ⁻¹ de NAA | 20 | --- | 20,00 | 50,00 | 30,00 |
| MS + 2 mg.L ⁻¹ de BAP | 20 | 5,00 | --- | 60,00 | 35,00 |

GCF → Gemas contaminadas com fungo.

GCFB → Gemas contaminadas com fungos e bactérias.

GND → Gemas não desenvolvidas (sadias).

GD → Gemas desenvolvidas com formação de raiz.

Um segundo ensaio, aos 27/04/2004, foi realizado com intuito de avaliar várias combinações dos reguladores vegetais BAP e NAA, a fim de obter melhores resultados de desenvolvimento de plantas de yacon a partir de gemas axilares. O protocolo de desinfecção também foi modificado, com diminuição da concentração do hipoclorito e maior cuidado com a assepsia dos tubos de ensaio em solução de hipoclorito concentrada, para evitar contaminação.

Foram inoculadas 15 gemas axilares em cada meio de cultura, introduzindo-se apenas a parte apical da gema. Verificou-se que o melhor meio de cultura para desenvolvimento de gemas axilares de yacon foi o meio MS + 0,5 mg.L⁻¹

BAP. Estes dados encontram apoio em Lima et al. (2002) que, avaliando o efeito do regulador vegetal BAP na morfogênese “in vitro” de explantes isolados a partir de gemas axilares e apicais de mandioca afirmaram que a concentração de 0,1 mg.L⁻¹ no meio de cultura promoveu a formação de calos maiores e mais friáveis. Os dados apresentados nesse experimento foram semelhantes aos encontrados por Madeira et al. (2005) que trabalharam no desenvolvimento in vitro de ápices caulinares com cerca de 2mm de mandioquinha-salsa e verificaram que a concentração de 0,3 mg.L⁻¹ BAP apresentou os melhores resultados, conciliando diâmetro de calo relativamente reduzido e bom desenvolvimento da parte aérea. (Tabela 3).

Tabela 3 – Desenvolvimento de gemas axilares de yacon (%), em dez meios de cultura após 30 dias de inoculação.

| Meios | Nº tubos | D | DR | DC | DCR | DCB | DCFBR | F | B | FB | CB | OB | O |
|--|----------|-------|-------|-------|-------|------|-------|------|-------|-------|------|------|------|
| MS | 15 | 0 | 20,00 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6,67 | 73,33 | 0 | 0 | 0 |
| MS + 0,5 mg.L ⁻¹ NAA | 15 | 0 | 20,00 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 80,00 | 0 | 0 | 0 |
| MS + 1,0 mg.L ⁻¹ NAA | 15 | 0 | 0 | 0 | 40,00 | 0 | 0 | 0 | 13,33 | 40,00 | 0 | 0 | 6,67 |
| MS + 2,0 mg.L ⁻¹ NAA | 15 | 0 | 0 | 0 | 53,33 | 0 | 6,67 | 6,67 | 6,67 | 26,67 | 0 | 0 | 0 |
| MS + 0,5 mg.L ⁻¹ BAP | 15 | 0 | 40,00 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6,67 | 53,33 | 0 | 0 | 0 |
| MS + 1,0 mg.L ⁻¹ BAP | 15 | 20,00 | 6,67 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 66,67 | 6,67 | 0 | 0 |
| MS + 2,0 mg.L ⁻¹ BAP | 15 | 13,33 | 6,67 | 6,67 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 73,33 | 0 | 0 | 0 |
| MS + 0,5 mg.L ⁻¹ NAA + 0,5 mg.L ⁻¹ BAP | 15 | 6,67 | 0 | 0 | 53,33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 40,00 | 0 | 0 | 0 |
| MS + 1,0 mg.L ⁻¹ NAA + 1,0 mg.L ⁻¹ BAP | 15 | 0 | 0 | 6,67 | 20,00 | 0 | 0 | 0 | 0 | 73,33 | 0 | 0 | 0 |
| MS + 2,0 mg.L ⁻¹ NAA + 2,0 mg.L ⁻¹ BAP | 15 | 0 | 0 | 13,33 | 13,33 | 6,67 | 0 | 0 | 0 | 53,33 | 0 | 6,67 | 6,67 |

D→ Desenvolvida; DR→ Desenvolvida e com formação de raiz; DC→ Desenvolvida e com presença de calos; DCR→Desenvolvida com presença de raiz e formação de calos; DCB→ Desenvolvida com formação de calos e com presença de bactérias; DCFBR→ Desenvolvida com formação de raiz, com presença de calos, fungos e bactérias; F→ Presença de Fungos; B→ Presença de Bactérias; FB→Presença de Fungos e de Bactérias; CB→ Presença de Calos e bactérias; OB →Presença de Oxidação e bactérias; O→ Presença de Oxidação.

Dos 15 tubos que foram inoculados no meio MS + 0,5 mg.L⁻¹ BAP, seis apresentaram-se sadios, com formação de raiz e de parte aérea, apresentando uma taxa de pegamento para esse meio de cultura de 40%, sendo esta superior à taxa de todos os outros meios utilizados.

Dessa forma, passou-se a utilizar esse meio, MS acrescido de 0,5 mg.L⁻¹ de BAP, para

inoculação e subcultivo das gemas laterais de yacon. Todas as plantas de yacon que restaram dos diversos experimentos passaram novamente por desinfecção e foram transferidas para meio similar. Após 30 dias foi realizada a avaliação sendo os dados apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Desenvolvimento de gemas axilares de yacon (%), em meio de cultura MS + 0,5 mg.L⁻¹ de BAP após 30 dias de inoculação.

| Meio | Nº tubos | S | SC | O | OB | ND |
|------------------------------------|----------|-------|----|------|------|-------|
| MS + 0,5 mg.L ⁻¹ de BAP | 30 | 76,67 | 0 | 6,67 | 6,67 | 10,00 |

S→Sadia;
SC→Sadia com formação de calos;
O→ Presença de oxidação;
OB→Planta oxidada e com presença de bactérias;
ND→Não desenvolvida.

A taxa de pegamento neste subcultivo foi de 76,67%, bastante superior em relação ao primeiro experimento (40%). Vale a pena salientar que estas plantas já estavam em meio de cultura, e não foram trazidas dos canteiros experimentais onde ocorrem maiores chances de contaminações fúngicas e bacterianas nos meios de cultura.

4. CONCLUSÕES

Para as condições de realização dos experimentos, pode-se concluir que o melhor meio de cultura para micropropagação por meio de gemas de rizóforo é o MS acrescido de 2 mg.L⁻¹ do regulador vegetal BAP, e com a utilização de gemas axilares, o MS acrescido de

0,5 mg.L⁻¹ do regulador vegetal BAP é o recomendado.

5. REFERÊNCIAS

CEREDA, M. P. Importância das tuberosas tropicais. In: CEREDA, M. P. et al. **Agricultura: tuberosas amiláceas latino americana**. São Paulo: Fundação Cargil, 2002. cap. 1, p. 13-25.

GIACOMETTI, D. Impacto atual da cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (Eds) **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: Empresa de Pesquisa Agropecuária, 1990. p. 18-25.

GRAU, A.; REA, J. Genetic Resources of yacon (Smallanthus sonchifolia Poepp. & Endl.). p. 198-242. In: HELLER, J.; HERMMAN, M.; ENGELS, J. **Andean roots and tuber genetic resources**. IPGRI-Roma, 1997.

HIRAYAMA, M. HIDAHA, H. Production and utilization of microbial fructans. In: SUZUKI, M., CHARTERTON, N. J. **Science and technology of fructans**. London: CRC, 1993. cap. 9, p. 273-302.

KAKIHARA, T. S.; CÂMARA, F. L. A.; VILHENA, S. M. C. et al. Cultivo e industrialização de yacon (Polymnia sonchifolia): uma experiência brasileira. In: **CONGRESSO LATINO AMERICANO DE RAÍZES TROPICAIS, 1 e CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 9, 1996**. Resumo nº 148.

LIMA, G. P. P.; BARSALOBRES, C.; PIZA, I. T.; CEREDA, M. P. Efeito do BAP e ANA e atividade da peroxidase em mandioca (Manihot esculenta Crantz cv mcol 32) cultivada in vitro. **R. Bras. Agrocência**, v. 8, n. 2, p. 107-110, 2002.

MADEIRA, N. R.; TEIXEIRA, J. B.; ARIMURA, C. T.; JUNQUEIRA, C. S. Influência da concentração de BAP e AG3 no desenvolvimento in vitro de mandioquinha salsa. **Hortic. Bras.**, v. 23, n. 4, p. 982-985, 2005.

MÓGOR, G. **Micropropagação "in vitro" de Zingiber officinale Roscoe (gengibre) e Xanthosoma sagittifolium (L.) Schott (taioba)**. 2002. 73f. Dissertação (Mestrado em

Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

MURASHIGE, T. S.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiol. Plant**, v. 15, p. 473-97, 1962.

MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue culture. **Ann. Rev. Plant Physiol.**, v. 25, p. 135-66, 1974.

NIETO, C. C. Estudios agronomicos y bromatológicos em "jicama" (Polymnia sonchifolia Polp. Endl.). **Arch. Latinoam. de Nutr.**, v. 41, p. 213-21, 1991.

OLIVEIRA, M. A.; NISHIMOTO, E. K.. Avaliação do desenvolvimento de plantas de yacon (Polymnia sonchifolia) e caracterização dos carboidratos de reserva em HPLC. **Braz. J. Food Technol.**, v. 7, n. 2, p. 215-220, 2004.

ROBLES, J. E. A. **Efeitos de doses crescente de nitrogênio e potássio na produtividade de yacon (Polymnia sonchifolia Poepp. & Endl.)** Dissertação (Mestrado em Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000. 58p.

TOMBOLATO, A. F. C.; EGLIT, A. C.; COSTA, A. M. M. Amarilis (Hippeastrum sp.). In: TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. (Coords) **Micropropagação de plantas**

hornamentais. Bol. Téc. Inst. Agron. Campinas, n. 174, p. 1-72, 1998.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: Embrapa-SPI / Embrapa-CNPQ, 1998. 864p.

VILHENA, S. M. C. **Efeitos da exposição ao sol e do armazenamento sobre o conteúdo e a composição dos carboidratos de reserva em raízes tuberosas de yacon.** Dissertação (Mestrado em Horticultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997. 63p.

VILHENA, S. M. C. **Ciclo de cultivo e técnicas pós-colheita de yacon (*Polymnia sonchifolia* Poep. Endl.) em função do conteúdo de frutose total nos órgãos subterrâneos.** Tese (Doutorado em Horticultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001. 73p.