

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

DANIELI FERNEDA CANDIDO

**CULTIVO *in vitro*, DIVERSIDADE GENÉTICA E ANÁLISE
BIBLIOMÉTRICA DE MANDIOQUINHA-SALSA**

TESE

PATO BRANCO

2022

DANIELI FERNEDA CANDIDO

**CULTIVO *in vitro*, DIVERSIDADE GENÉTICA E ANÁLISE
BIBLIOMÉTRICA DE MANDIOQUINHA-SALSA**

***In vitro* culture, genetic diversity and bibliometric analysis of
mandioquinha-salsa**

Tese apresentada como requisito parcial à
obtenção do título de Doutora em Agronomia -
Área de Concentração: Produção Vegetal da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Orientadora: Taciane Finatto

Coorientador: Thiago de Oliveira Vargas

Coorientador: Nuno Rodrigo Madeira

PATO BRANCO

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite o download e o compartilhamento da obra desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-la ou utilizá-la para fins comerciais.



**Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Pato Branco**



DANIELI FERNEDA CANDIDO

CULTIVO IN VITRO, DIVERSIDADE GENÉTICA E ANÁLISE BIBLIOMÉTRICA DE MANDIOQUINHA-SALSA

Trabalho de pesquisa de doutorado apresentado como requisito para obtenção do título de Doutora Em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Área de concentração: Produção Vegetal.

Data de aprovação: 24 de Junho de 2022

Dra. Taciane Finatto, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Daniel Da Rosa Farias, Doutorado - Instituto Federal Catarinense

Dra. Luciana Luiza Pelegrini, Doutorado - Faculdade Campo Real (Campo Real)

Dra. Marisa De Cacia Oliveira, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Suzana Stefanello, Doutorado - Universidade Federal do Paraná (Ufpr)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 27/06/2022.

Dedico este trabalho à minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me abençoar e ter me dado forças para concluir este trabalho.

À minha família, Andre, Elaine, Irineu, Alexsandra, Tatiane, Rodrigo e Reginado, por estarem ao meu lado, me incentivando e me apoiando nos momentos mais difíceis. Aos meus sobrinhos, Beatriz e Gabriel, que alegam diariamente a minha vida.

À minha orientadora Taciane, pelos ensinamentos, mas principalmente pela paciência e compreensão, meus mais sinceros agradecimentos.

Aos meus coorientadores, Thiago de Oliveira Vargas e Nuno Rodrigo Madeira, obrigada pelas contribuições e ensinamentos.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade e disponibilidade de infraestrutura e recursos.

À Universidade do Oeste de Santa Catarina – Campus Xanxerê, por disponibilizar a infraestrutura para a conclusão deste trabalho.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro, edital CNPq/MCTIC nº 016/2016 code 443245/2016-9 e à UTFPR Edital 07/2019 – PROPPG/UTFPR.

À Simone Silveira, pela ajuda com as análises moleculares, e pelos ensinamentos. Obrigada.

Aos colegas de laboratório, por toda a ajuda no trabalho.

Aos meus amigos e colegas de trabalho, que torceram por mim.

“Não existe homem vivo que não seja capaz de fazer mais do que pensa que pode”. Henry Ford.

RESUMO

CANDIDO, Danieli Ferneda. Cultivo *in vitro*, diversidade genética e análise bibliométrica de mandioquinha-salsa. 90 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção Vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Pato Branco, 2022.

A mandioquinha-salsa é uma hortaliça tuberosa cultivada em diversos países, sendo o Brasil o maior produtor. A espécie é propagada vegetativamente e o plantio é limitado a poucas cultivares. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento *in vitro* e a diversidade genética de cultivares de mandioquinha-salsa e, por meio de uma análise bibliométrica, mensurar o estado da arte das publicações, e pesquisas com a cultura. Para os estudos de propagação *in vitro* conduziram-se três experimentos. No primeiro foi avaliado o efeito do fotoperíodo (10, 12 e 14 h) em diferentes cultivares (Amarela de Senador Amaral, BRS Catarina 64 e BRS Rubia 41). No segundo, foi avaliada a resposta *in vitro* das cultivares e no terceiro experimento, foi avaliada a resposta das cultivares em diferentes combinações de GA₃ e AIB. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado e comparados pelo teste de Tukey a 5%. Para o estudo da diversidade genética, 11 genótipos foram analisados utilizando-se 10 iniciadores SSR. A similaridade genética foi analisada pelo coeficiente de Dice e o dendrograma foi construído pelo método de agrupamento UPGMA. O estado da arte foi mensurado por meio de uma análise bibliométrica, que consistiu em uma pesquisa na base *Web of Science*, utilizando-se os termos “*Arracacia xanthorrhiza*”, “arracacha”, “peruvian carrot” e “mandioquinha-salsa”. O intervalo de tempo utilizado foi entre os anos 1967 e 2021 e o arquivo gerado foi analisado no pacote bibliometrix, utilizando-se a extensão *biblioshiny*. Em todos os genótipos houve abundante regeneração *in vitro*. Não se observou efeito do fotoperíodo no desenvolvimento das cultivares e a resposta *in vitro* foi distinta de acordo com as cultivares. As cultivares que melhor responderam à proliferação de brotos foram BRS Catarina 64 e BRS Rubia 41. BRS Catarina 64 apresentou melhores respostas para número de brotos e folhas em meio com GA₃ e AIB. A análise da diversidade genética resultou na formação de quatro grupos. Dos 11 genótipos estudados, oito pertencem ao mesmo grupo e a similaridade média foi de 0,76, enfatizando a baixa variabilidade genética existente na cultura. O genótipo que apresentou menor similaridade com os demais foi BRS Acarijó 56. A análise bibliométrica demonstrou que a mandioquinha-salsa é pouco explorada pela comunidade científica e os estudos são direcionados principalmente às propriedades físico-químicas do amido, sendo o Brasil o país de maior destaque nas pesquisas. Novos estudos envolvendo pesquisas com mandioquinha-salsa são importantes, tanto para subsidiar seu cultivo pelos agricultores, quanto para ampliar a variabilidade genética existente na cultura.

Palavras-chave: *Arracacia xanthorrhiza* Bancroft. Abordagem bibliométrica. Propagação *in vitro*. Marcadores microssatélites.

ABSTRACT

CANDIDO, Danieli Ferneda. *In vitro* culture, genetic diversity and bibliometric analysis of mandioquinha-salsa. 90 f. Thesis (Ph.D. in Agronomy) – Graduate Program in Agronomy (Concentration Area: Crop), Federal University of Technology - Paraná (UTFPR). Pato Branco, 2022.

Peruvian carrot is a tuberous vegetable grown in several countries, Brazil being the largest producer. The species is propagated vegetatively and planting is limited to a few cultivars. The objective of this work was to evaluate the *in vitro* development and the genetic diversity of peruvian carrot cultivars and, through a bibliometric analysis, to measure the state of the art of publications and research with the culture. For the *in vitro* propagation studies, three trials were carried out. In the first, the effect of photoperiod (10, 12 and 14 h) in different cultivars (Amarela de Senador Amaral, BRS Catarina 64 and BRS Rubia 41) was evaluated. In the second, the *in vitro* response of the cultivars was evaluated and in the third experiment, the response of the cultivars to different combinations of GA₃ and AIB was evaluated. The trials were carried out in a completely randomized design and compared using the Tukey test at 5%. For the study of genetic diversity, 11 genotypes were analyzed using 10 SSR primers. Genetic similarity was analyzed using the Dice coefficient and the dendrogram was constructed using the UPGMA clustering method. The state of the art was measured through a bibliometric analysis, which consisted of a search in the Web of Science database, using the terms “*Arracacia xanthorrhiza*”, “arracacha”, “peruvian carrot” and “mandioquinha-salsa”. The time interval used was between the years 1967 and 2021 and the generated file was analyzed in the bibliometrix package, using the *biblioshiny* extension. In all genotypes there was abundant *in vitro* regeneration. There was no effect of photoperiod on cultivar development and the *in vitro* response was different according to cultivars. The cultivars that best responded to shoot proliferation were BRS Catarina 64 and BRS Rubia 41. BRS Catarina 64 showed better responses for number of shoots and leaves in medium with GA₃ and IBA. The analysis of genetic diversity resulted in the formation of four groups. Of the 11 genotypes studied, eight belong to the same group and the average similarity was 0.76, emphasizing the low genetic variability existing in the crop. The genotype that presented the least similarity with the others was BRS Acarijó 56. The bibliometric analysis showed that the persimmon is little explored by the scientific community and the studies are mainly directed to the physicochemical properties of the starch, with Brazil being the country with the highest highlighted in research. New studies involving research on carrots are important, both to subsidize its cultivation by farmers, and to increase the genetic variability existing in the culture.

Keywords: *Arracacia xanthorrhiza* Bancroft. Bibliometric approach. *In vitro* propagation. Microsatellite markers.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Material vegetal utilizado para a obtenção de explantes de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft). A) Tecido de reserva após lavagem em água corrente. B) Tecido de reserva após nova redução do tamanho. C) Tecido de reserva, visualizado sob lupa estereoscópica, com seta (►) indicando o ápice caulinar. D) Ápice caulinar visualizado em lupa estereoscópica após excisão do tecido de reserva. Barra = 1 cm. UTFPR, Pato Branco, 2022..... 32
- Figura 2 – Plântulas de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) obtidas *in vitro* a partir de ápices caulinares cultivados em meio B5 suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 0,3 mg L⁻¹ de BAP e 0,1 mg L⁻¹ de ANA. A) Plântulas da cultivar Amarela de Senador Amaral. B) Plântulas da cultivar BRS Catarina 64. C) Plântulas da cultivar BRS Rubia 41. Barra = 1 cm. UTFPR, Pato Branco, 2022.....37
- Figura 3 – Presença de calos na base de plântulas de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) obtidas *in vitro* a partir de ápices caulinares cultivados em meio B5 suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 0,3 mg L⁻¹ de BAP e 0,1 mg L⁻¹ de ANA. A) Calo em plântula da cultivar Amarela de Senador Amaral. B) Calo em plântula da cultivar BRS Catarina 64. C) Calo em plântula da cultivar BRS Rubia 41. Barra = 1 cm. UTFPR, Pato Branco, 2022..... 40
- Figura 4 – Plântulas de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) obtidas *in vitro* a partir de ápices caulinares cultivados em meio B5 suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 0,3 mg L⁻¹ de BAP e 0,1 mg L⁻¹ de ANA e diferentes combinações de GA₃ + AIB. A) e B) Plântulas da cultivar Amarela de Senador Amaral. C) e D) Plântulas da cultivar BRS Catarina 64. E) e F) Plântulas da cultivar BRS Rubia 41. Barra = 1 cm. UTFPR, Pato Branco, 2022..... 46
- Figura 5 – Gel de agarose 2% demonstrando os produtos da amplificação da PCR com o iniciador AxD82. Ordem das amostras: 1. BGH 7609; 2. BGH 6311; 3. SCS381 Coqueiral; 4. BGH 6313; 5. BRS Acarijó 56; 6. Amarela de Senador Amaral; 7. Gigante de Angelina; 8. Amarela Comum; 9. BRS Catarina 64; 10. BRS Rubia 41; 11. Branca Comum; C-. Controle negativo; M. Marcador 100pb (Norgen). UTFPR, Pato Branco, 2022.....53
- Figura 6 – Dendrograma de similaridade genética resultante da análise de 11 genótipos de mandioca-salsa, com base em 10 SSRs, utilizando o índice de similaridade de Dice (1945) e o método de agrupamento UPGMA. A similaridade média é 0,76 e o coeficiente de correlação cofenética (r) é 0,95. UTFPR, Pato Branco, 2022.....54
- Figura 7 – Produção científica anual sobre o tema mandioca-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022....60
- Figura 8 – Fontes de maior relevância com base no número de artigos publicados referentes ao tema mandioca-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022..... 61
- Figura 9 – Autores de maior impacto com base no número de artigos publicados referentes ao tema mandioca-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022..... 62
- Figura 10 – Evolução da produção científica dos autores mais relevantes por ano, referente ao tema mandioca-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022..... 63
- Figura 11 – Países onde estão localizadas as instituições dos artigos mais citados referentes ao tema mandioca-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022..... 64
- Figura 12 – Instituições com maior relevância com base no número total de publicações por afiliados

como autores correspondentes referentes ao tema referentes ao tema mandioquinha-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022..... 65

Figura 13 – Rede de colaboração entre as instituições referentes ao tema mandioquinha-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022..... 66

Figura 14 – Documentos mais citados globalmente com base no número de citações relacionados ao tema mandioquinha-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022.....67

Figura 15 – Redes de proximidade das palavras mais citadas nas palavras-chave relacionadas ao tema mandioquinha-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022.....68

Figura 16 – Nuvem com as 50 palavras mais citadas nos títulos relacionadas ao tema mandioquinha-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022..... 69

Figura 17 – Autores de maior impacto com base no número de artigos publicados referentes a palavra vírus em mandioquinha-salsa, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022..... 70

Figura 18 – Instituições com maior relevância com base no número total de publicações por afiliados como autores correspondentes referentes a pesquisas com vírus em mandioquinha-salsa, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022..... 71

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Resumo da análise de variância para percentual de contaminação, taxa de regeneração, número de brotos, número de folhas, número de raízes e porcentagem de calos em plântulas de mandioquinha-salsa em função da combinação de diferentes cultivares e fotoperíodos. UTFPR, Pato Branco, 2022.....36
- Tabela 2 – Dados médios do percentual de contaminação, taxa de regeneração, número de brotos, número de folhas, número de raízes e porcentagem de calos das cultivares de mandioquinha-salsa Amarela de Senador Amaral (ASA), BRS Catarina 64 e BRS Rubia 41. UTFPR, Pato Branco, 2022..... 39
- Tabela 3 – Resumo da análise de variância para a taxa de regeneração, número de brotos, número de folhas, número de raízes e porcentagem de calos em cultivares de mandioquinha-salsa. UTFPR, Pato Branco, 2022..... 41
- Tabela 4 – Dados médios da taxa de regeneração, número de brotos, número de folhas, número de raízes e porcentagem de calos das cultivares de mandioquinha-salsa Amarela de Senador Amaral (ASA), BRS Catarina 64 e BRS Rubia 41. UTFPR, Pato Branco, 2022. 41
- Tabela 5 – Resumo da análise de variância para número de brotos, comprimento de broto, número de folhas, número de raízes e porcentagem de calos em plântulas de mandioquinha-salsa em função da combinação de diferentes cultivares e reguladores de crescimento. UTFPR, Pato Branco, 2022..... 42
- Tabela 6 – Dados médios do número de brotos, comprimento de broto, número de folhas e número de raízes de cultivares de mandioquinha-salsa em resposta a diferentes combinações de reguladores de crescimento. UTFPR, Pato Branco, 2022.....43
- Tabela 7 – Dados médios do número de brotos, comprimento de broto, número de folhas e número de raízes das cultivares de mandioquinha-salsa Amarela de Senador Amaral (ASA), BRS Catarina 64 e BRS Rubia 41. UTFPR, Pato Branco, 2022.....44
- Tabela 8 – Dados médios da porcentagem de calos das cultivares de mandioquinha-salsa Amarela de Senador Amaral (ASA), BRS Catarina 64 e BRS Rubia 41 em resposta a combinação de diferentes reguladores de crescimento. UTFPR, Pato Branco, 2022.....45
- Tabela 9 – Iniciadores SSR utilizados para análise da similaridade genética em genótipos de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft). UTFPR, Pato Branco, 2022.....50

LISTA DE SIGLAS, ACRÔNIMOS E ABREVIATURAS

2iP	2-isopenteniladenina
AIB	Ácido Indolbutírico
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
ANA	Ácido Naftaleno Acético
atm.	Atmosfera
B.O.D.	Biochemical Oxygen Demand
BAP	6-benzilaminopurina
CAFe	Comunidade Acadêmica Federada
Capes	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
cm	Centímetro
CTAB	Cetyltrimethylammonium bromide
CV	Coeficiente de Variação
DNA	Deoxyribonucleic acid
EDTA	Ethylenediamine Tetraacetic Acid
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
GA ₃	Ácido Giberélico
GL	Graus de Liberdade
h	Hora
MS	Murashige & Skoog
NaCl	Cloreto de Sódio
NaOH	Hipoclorito de Sódio
NTSYS-PC	Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System for Personal Computers
pb	Par de Base
PCR	Polimerase Chain Reaction
PR	Unidade da Federação – Paraná
QM	Quadrado Médio
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RFPL	Restriction Fragment Length Polymorphism
SC	Unidade da Federação – Santa Catarina
SCAR	Sequence Characterized Amplified Region
SSR	Single Sequence Repeat
SSRs	Simple Sequence Repeats
TA	Temperatura de Anelamento
TE	TRIS-EDTA
Tris-HCL	(Hydroxymethyl) Aminomethane Hydrochloride
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
UNOESC	Universidade do Oeste de Santa Catarina
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
VNTRs	Variable Number of Tandem Repeats
WoS	Web Of Science

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
®	Marca registrada
L	Litro
M	Molar
mg	Miligrama
mm	Milímetro
mL	Mililitro
mM	Milimolar
ng	Nanograma
nm	Nanômetro
p/v	Peso por volume
pH	Potencial hidrogeniônico
µL	Microlitro
µM	Micromolar
µmol m ⁻² s ⁻¹	Micromol por metro quadrado por segundo
g	Gramas
g L ⁻¹	Gramas por litro
mg L ⁻¹	Miligramas por litro
ng L ⁻¹	Nanogramas por litro
V	Volts

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 A mandioquinha-salsa.....	17
2.2 Características botânicas.....	18
2.3 Condições climáticas e época de plantio.....	19
2.4 Propagação da mandioquinha-salsa.....	20
2.5 Propagação vegetativa <i>in vitro</i>	21
2.5.1 Reguladores de crescimento.....	21
2.5.2 Fotoperíodo.....	23
2.6 Diversidade genética em mandioquinha-salsa.....	24
2.7 A análise bibliométrica.....	27
3 ASSUNTO 1 – CULTIVO <i>in vitro</i> DE MANDIOQUINHA-SALSA.....	29
3.1 Introdução ao assunto 1.....	29
3.2 Procedimentos metodológicos do assunto 1.....	30
3.2.1 Efeito do fotoperíodo em diferentes cultivares de mandioquinha-salsa.....	31
3.2.1.1 Obtenção do material vegetal.....	31
3.2.1.2 Assepsia e isolamento.....	31
3.2.1.3 Meio de cultura e incubação.....	33
3.2.2 Resposta <i>in vitro</i> de diferentes cultivares de mandioquinha-salsa.....	33
3.2.3 Resposta <i>in vitro</i> de cultivares de mandioquinha-salsa submetidas a combinações de GA ₃ e AIB.....	34
3.2.4 Variáveis analisadas.....	35
3.2.5 Análise estatística.....	36
3.3 Resultados e discussões do assunto 1.....	36
3.3.1 Efeito do fotoperíodo em diferentes cultivares de mandioquinha-salsa.....	36
3.3.2 Resposta <i>in vitro</i> de diferentes cultivares de mandioquinha-salsa.....	40
3.3.3 Resposta <i>in vitro</i> de cultivares de mandioquinha-salsa submetidas a combinações de GA ₃ e AIB.....	42
3.4 Conclusões sobre o assunto 1.....	47
4 ASSUNTO 2 – ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA EM GENÓTIPOS DE MANDIOQUINHA-SALSA.....	48
4.1 Introdução ao assunto 2.....	48
4.2 Procedimentos metodológicos do assunto 2.....	49
4.2.1 Obtenção do material vegetal.....	49
4.2.2 Escolha dos iniciadores.....	50

4.2.3 Extração, integridade e quantificação de DNA.....	51
4.2.4 Amplificação de DNA por PCR.....	51
4.2.5 Eletroforese.....	52
4.2.6 Análise de dados.....	52
4.3 Resultados e discussões do assunto 2.....	52
4.4 Conclusões sobre o assunto 2.....	57
5 ASSUNTO 3 – ANÁLISE BIBLIOMÉTRICA DE MANDIOQUINHA-SALSA.....	58
5.1 Introdução ao assunto 3.....	58
5.2 Procedimentos metodológicos do assunto 3.....	59
5.3 Resultados e discussões do assunto 3.....	60
5.4 Conclusões sobre o assunto 3.....	71
6 CONCLUSÕES.....	73
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74
REFERÊNCIAS.....	75

1 INTRODUÇÃO

A mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) é uma hortaliça cultivada principalmente no Brasil, Colômbia, Equador, Peru e Bolívia (CHAALI et al., 2020). Na última década, no entanto, devido às suas características o cultivo desta raiz teve uma demanda crescente em países como Austrália, Estados Unidos e diversos países da América Central (PINTO-ACERO et al., 2020; MORILLO e SÉCOND, 2016).

A mandioquinha-salsa é um alimento de alto valor nutritivo em razão do elevado teor de proteínas e macronutrientes, como cálcio e fósforo, indicando seu potencial como um alimento funcional (LEIDI et al., 2018; SEDIYAMA et al., 2005; ZANIN e CASALI, 1984b). Devido ao seu aporte energético é considerada dentro de um esquema de agricultura familiar como uma cultura fundamental para a segurança alimentar (RINCÓN RUEDA et al., 2021).

No Brasil, o cultivo da mandioquinha-salsa baseia-se praticamente no plantio de poucas cultivares, em especial a cultivar Amarela de Senador Amaral (ASA), sendo que aproximadamente 95% do volume produzido das raízes é destinado ao mercado *in natura* (CARVALHO, 2008; CARVALHO et al., 2018). A raiz também é utilizada nas indústrias farmacêutica e cosmética (GUTIÉRREZ, 2011), podendo ser empregada como fonte alternativa para extração de amido devido às suas propriedades atrativas (CASTANHA et al., 2018; CRUZ-TIRADO et al., 2019).

A produção de mandioquinha-salsa constitui-se em ótima alternativa para pequenos e médios produtores, especialmente dentro dos conceitos de agricultura familiar, em razão da considerável demanda por mão-de-obra, principalmente nas fases de plantio e colheita (MADEIRA et al., 2002). No entanto, por ser espécie de propagação vegetativa, e limitada há poucas cultivares, está sujeita à diminuição da diversidade genética, o que aumenta a possibilidade de ocorrência de pragas e doenças que promovem a queda do rendimento das plantas (ROJAS et al., 2004; MADEIRA e SOUZA, 2004).

Considerando as amplas possibilidades de produção e comercialização da mandioquinha-salsa tanto no mercado interno quanto externo, há necessidade de aperfeiçoamento das técnicas de plantio com vistas à obtenção de plantas saudáveis,

isentas de patógenos, uniformes e que favoreçam a produção de raízes com padrões de qualidade. Nesse contexto, as técnicas de propagação *in vitro*, como a micropropagação, permitem produzir em um tempo relativamente curto e em espaço reduzido, material de qualidade e livre de doenças para fornecimento aos agricultores (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998; TRIGIANO e GRAY, 2005; XAVIER et al., 2013).

Entretanto, poucos trabalhos foram desenvolvidos no Brasil com mandioquinha-salsa em relação à micropropagação. Não há registro de informações sobre como o fotoperíodo e a regeneração, essenciais para o desenvolvimento de um eficiente protocolo de micropropagação, afetam o crescimento das plantas *in vitro*.

Ainda, devido ao cultivo de poucas variedades a base genética da espécie tende a ser limitada, tornando-se importante estimar a diversidade genética entre as cultivares, para orientar o melhoramento das características desejáveis pela indústria. Uma ferramenta eficientemente empregada para caracterizar a diversidade genética em plantas são os marcadores moleculares, dentre os quais, pode-se citar os marcadores microssatélites (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998; YANG et al., 2013; XIAO et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2021). No Brasil, no entanto, não há relatos do emprego destes marcadores na estimativa da diversidade genética de plantas de mandioquinha-salsa.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento *in vitro* e a diversidade genética de cultivares de mandioquinha-salsa e, por meio de uma análise bibliométrica, mensurar o estado da arte das publicações, e pesquisas com a cultura.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A mandioquinha-salsa

A mandioquinha-salsa originária da região andina da América do Sul, compreendida pela Venezuela, Colômbia, Equador, Peru e Bolívia (MADEIRA e SOUZA, 2004), é uma das mais importantes raízes andinas cultivadas (ORÍLIO et al., 2013). Conhecida também como batata-baroa, batata-cenoura, batata-salsa, mandioquinha, batata-aipo, cenoura-amarela e vários outros nomes (CARVALHO, 2008), esta hortaliça foi introduzida no Brasil em 1907 por meio de doação à Sociedade de Agricultura do Brasil pelo general colombiano Rafael Uribe y Uribe (HERMINIO, 2005).

Estima-se que aproximadamente 9.000 hectares de mandioquinha-salsa sejam plantados anualmente no Brasil, principalmente nos estados do Paraná, Minas Gerais, Santa Catarina e Espírito Santo (CARVALHO et al., 2018). Nestas regiões, como é o caso do Paraná e Santa Catarina, o plantio é condicionado ao período de julho a outubro (SANTOS, 1993). Na região Sul de Minas Gerais, os plantios são em sua maioria realizados entre os meses de fevereiro a setembro (SANTOS, 1997).

Considerada uma hortaliça alternativa, com plantas rústicas, a mandioquinha-salsa é cultivada principalmente por pequenos e médios produtores (BIESDORF et al., 2017; GRANATE et al., 2006). As raízes da planta apresentam elevada função energética. Na sua composição destacam-se o alto teor de carboidratos, além de níveis consideráveis de minerais e vitaminas (SEDIYAMA et al., 2005; QUILAPANTA et al., 2018), sendo recomendada pelo teor nutritivo e fácil digestibilidade (VITAMVAS et al., 2019).

Além disso, as raízes apresentam grande potencial para produção de chips, farinhas, fécula, sopas, cremes, pré-cozidos, alimentos infantis (“papinhas”), fritas (“chips” e “palha”), purês, biscoitos e outros produtos, sendo que a oferta de produtos processados poderá aumentar o consumo e a produção de mandioquinha-salsa no Brasil e no mundo (CARMO e LEONEL, 2012; SILVA et al., 2021). Nesse sentido, com o miniprocessamento e a industrialização do produto, abre-se uma

oportunidade de exportação, complicada para o produto in natura em razão da sua reduzida conservação pós-colheita (MADEIRA e SOUZA, 2004).

Destaca-se também a possibilidade do cultivo orgânico em função da rusticidade da cultura, o que vai ao encontro da crescente demanda por produtos ecologicamente racionais, com qualidade superior em termos de segurança alimentar, comparando-se àqueles produzidos com produtos sintéticos (MADEIRA e SOUZA, 2004). Portanto, além de ser uma hortaliça com várias qualidades nutricionais positivas, a mandioquinha-salsa é grande empregadora de mão de obra, muitas vezes familiar, e atinge altos preços durante a comercialização (CARMO, 2011). Dessa maneira, é relevante o aspecto social decorrente do processo produtivo da mandioquinha-salsa, tanto pelo intenso uso de mão de obra quanto pelo retorno positivo que proporciona aos produtores (SEDIYAMA et al., 2005).

2.2 Características botânicas

A mandioquinha-salsa é uma espécie eudicotiledônea e tetraploide ($2n = 4x = 44$) (MORILLO et al., 2004), pertencente à família Apiaceae, a qual compreende também a cenoura, a salsa, o coentro, o aipo, o funcho, entre outras (MADEIRA e SOUZA, 2004; ORÍLIO et al., 2013). A planta apresenta altura variando entre 60 cm e 150 cm e as folhagens podem alcançar até 1,5 m de altura. É anual quanto à produção das raízes tuberosas e perene quanto ao ciclo biológico, razão pela qual, raras vezes completa o ciclo em plantios comerciais (CASALI e SEDIYAMA, 1997).

As folhas são pinatisectas com três a quatro pares de pecíolos opostos e um terminal, que mede até 50 cm. A coloração das folhas e do pecíolo varia de verde a roxo, conforme o clone (CASALI, 1994). O caule é vertical, corno, capaz de perfilhar na parte superior. Compõe-se de uma coroa, também chamada cepa, miolo ou mãe, que é originada da muda que formou a planta (MADEIRA e CARVALHO, 2016).

A parte subterrânea é constituída principalmente pelas raízes tuberosas, em número geralmente de quatro a dez, podendo produzir 20 ou mais, que saem da parte inferior da coroa. As raízes são ovoides, cônicas ou fusiformes,

com 5 a 25 cm de comprimento e de 3 a 8 cm de diâmetro. A mandioquinha-salsa é uma planta alógama e as flores são pequenas, com cinco pétalas que se alternam com cinco estames compridos e finos. As flores são reunidas em uma inflorescência chamada umbela (CASALI e SEDIYAMA, 1997). O fruto é do tipo diaquênio e as sementes são transversalmente teretiformes (cilíndricas) e possuem canais oleíferos que dão o odor característico à espécie (MADEIRA e CARVALHO, 2016).

2.3 Condições climáticas e época de plantio

A mandioquinha-salsa apresenta algumas características peculiares, a começar pelas exigências climáticas (PINHEIRO et al., 2013). O desenvolvimento da cultura, em especial a formação de raízes tuberosas, é determinado pela temperatura e pelo fotoperíodo. A formação das raízes tuberosas é sensível tanto às baixas como às altas temperaturas, e a insuficiência de horas-luz pode induzir o processo de tuberização adventícia (VILLORDON et al., 2010).

A mandioquinha-salsa é uma planta cultivada em regiões de clima ameno, com altitudes entre 1.500 e 2.500 m (SANTOS et al., 1991). Por este motivo, encontrou em algumas regiões do Sudeste e Sul do Brasil condições climáticas favoráveis ao seu desenvolvimento (CARVALHO et al., 2018). Nos países andinos, o cultivo da espécie é realizado em temperatura média na faixa de 15 a 20 °C e precipitação pluvial anual em torno de 1.400 mm (SANTOS e CARMO, 1998). No Brasil, normalmente a cultura se concentra em regiões localizadas entre 600 e 1.500 m de altitude, e temperatura média anual na faixa dos 17 °C (ZANIN e CASALI, 1984a; SANTOS e CÂMARA, 1995).

Em regiões de altitudes entre 800 e 1.400 m, a mandioquinha-salsa pode ser cultivada durante todo o ano, devendo ser evitados os locais onde a ocorrência de geadas for frequente (SANTOS e CARMO, 1998). Nestas regiões, como é o caso do Paraná e Santa Catarina, o plantio é condicionado ao período de setembro a outubro (SANTOS, 1993). Na região Sul de Minas Gerais, os plantios são em sua maioria realizados entre os meses de fevereiro a setembro (SANTOS, 1997).

No plantio de inverno, o estande de plantas é maior por causa da

menor perda de mudas por apodrecimento. Porém o ciclo é mais prolongado, chegando a atingir 14 meses. No plantio de setembro a março, ao contrário, ocorre redução do ciclo (SANTOS e CARMO, 1998). No Brasil, a mandioquinha-salsa é comumente colhida a partir de oito meses após o plantio (GRANATE et al., 2006). Para algumas regiões com altitude inferior a 700 m, os plantios de março a maio podem ser mais vantajosos, uma vez que coincidem com época de temperatura mais baixa, além de obter melhor cotação do produto no mercado (SEDIYAMA et al., 2005).

Dessa maneira, o plantio da mandioquinha-salsa, teoricamente, pode ser realizado durante todo o ano. No entanto, nos meses mais quentes e com alta precipitação, o risco de apodrecimento das mudas causado principalmente por bactérias é mais elevado. A solução para os plantios de dezembro a fevereiro é o uso do pré-enraizamento em canteiros, em telados com cobertura de plástico ou em recipientes adequados para a formação de mudas de hortaliças (SANTOS e CARMO, 1998). Sendo assim, a temperatura do ar, o fotoperíodo e a radiação solar, são fatores que têm grande influência sobre a qualidade da planta, visto que, interferem no crescimento, no desenvolvimento e na produtividade da espécie (MEDEIROS et al., 1990; VILLORDON et al., 2010).

2.4 Propagação da mandioquinha-salsa

Em algumas condições, a mandioquinha-salsa floresce e produz sementes botânicas viáveis em quantidades razoáveis. Todavia, o uso de sementes botânicas em plantios comerciais é inviável, pelos baixos índices de germinação e vigor da planta de primeira geração e pela desuniformidade da população oriunda de sementes (MADEIRA e SOUZA, 2004). Em razão disso, a propagação da espécie via sementes é utilizada para fins de melhoramento genético ou ampliação de variabilidade genética, enquanto, para fins comerciais, utiliza-se a propagação vegetativa (MADEIRA e CARVALHO, 2016).

Para a propagação vegetativa da mandioquinha-salsa são utilizados os rebentos (brotos que crescem na parte aérea da planta), extraídos das touceiras logo após a colheita das raízes e que se apresentam saudáveis, livres do ataque tanto

de doenças como de insetos (SANTOS et al., 1993; MADEIRA e CARVALHO, 2016).

No entanto, em virtude das diferentes idades fisiológicas das mudas dentro de uma mesma touceira, observa-se grande desuniformidade de emergência e, por conseguinte, desuniformidade também no ponto de colheita, além de elevado percentual de falhas a campo (MADEIRA e SOUZA, 2004). Além disso, a propagação vegetativa convencional constitui um mecanismo de disseminação de pragas e doenças, que resulta na redução da produtividade a campo.

2.5 Propagação vegetativa *in vitro*

A propagação vegetativa *in vitro* é uma das técnicas mais utilizadas na cultura de tecidos vegetais (AASIM et al., 2008). Por meio desta técnica, pequenos fragmentos de tecido vegetal, denominados explantes, são retirados de uma planta matriz e mantidos em laboratório sob condições controladas, visando produzir milhares de novas plantas, em um período relativamente curto e em espaço reduzido (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998; IDOWU et al., 2009; MORAIS et al., 2012).

A propagação vegetativa *in vitro* é bastante útil, uma vez que permite a manutenção da identidade genética, a produção de mudas uniformes em larga escala, com alta qualidade fisiológica e sanitária, mudas isentas de vírus e a produção em espaço físico reduzido, além de ser importante para a conservação de germoplasma (FLETCHER e FLETCHER, 2001). Assim, esta técnica permite que os pesquisadores melhorem plantas de importância econômica (KIRTIŞ e AASIM, 2019).

No entanto, o sucesso da propagação de plantas *in vitro* depende, entre outros fatores, do genótipo, tipo de explante, concentrações dos sais e reguladores de crescimento, meio de cultura, número de subcultivos e da temperatura e fotoperíodo utilizados (MOHEBALIPOUR et al., 2012; ARAGÃO et al., 2016; SILVA, 2016).

2.5.1 Reguladores de crescimento

Reguladores de crescimento são um grupo de substâncias de ocorrência natural nos tecidos vegetais e, assim como seus análogos sintéticos, possuem ação de sinalizadores, influenciando os diferentes estágios do desenvolvimento da planta (VERPOORTE et al; 2002; TAIZ e ZEIGER, 2012). Os reguladores de crescimento na cultura *in vitro* são adicionados para suprir as deficiências dos teores endógenos do próprio explante, estimulando respostas de interesse para diferenciação, crescimento, alongamento e multiplicação celular (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

Nesse escopo, diversas classes de reguladores vegetais têm sido empregadas nas técnicas no cultivo de plantas *in vitro*, sendo as auxinas e citocininas as duas classes de reguladores de crescimento mais utilizadas (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998; JARDIM et al., 2010; MORAIS et al., 2014). Estes reguladores interagem modulando e regulando a divisão celular, formação de tecidos ou órgãos na planta, ressaltando assim a sua importância nos processos organogênicos (FETT-NETO et al., 2001; NUNES et al., 2002; EL-SHOWK et al., 2013).

As auxinas geralmente são utilizadas quando o objetivo é a formação de raízes, a divisão celular e a embriogênese, pois são hormônios que atuam no alongamento do caule, na dominância apical e no enraizamento. O AIB (ácido indolbutírico) é uma das auxinas mais utilizadas na indução do enraizamento (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998; RADMANN et al., 2002), principalmente quando associado com outras auxinas.

As citocininas, por sua vez, estão relacionadas com a superação da dominância apical exercida pelas auxinas e, conseqüentemente, com a proliferação da parte aérea, sendo frequentemente utilizadas para estimular o crescimento e desenvolvimento de brotações múltiplas (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998; NUNES et al., 2002; EL-SHOWK et al., 2013; BOTIN e CARVALHO, 2015). O BAP (6-benzilaminopurina) é a citocinina mais utilizada atualmente, seguida pela cinetina e 2-iP (2-isopenteniladenina), e tem sido muito eficiente na multiplicação de partes aéreas e na indução de gemas adventícias em diversas espécies (HU e WANG, 1983; FRÁGUAS, 2003).

Adicionalmente, a atuação das giberelinas, outra classe de reguladores

de crescimento, também tem sido decisiva em muitos aspectos do desenvolvimento das plantas (SOUZA et al., 2010). As giberelinas têm como um dos principais efeitos em cultura de tecidos o alongamento das brotações, durante a multiplicação ou antes do enraizamento, favorecendo a propagação *in vitro* (VILLA et al., 2006; TAIZ et al., 2017).

No entanto, quando aplicado em concentrações relativamente elevadas, o ácido giberélico (GA_3), um dos produtos comerciais mais importantes como giberelina, impede a formação de raízes (XAVIER et al., 2013), especialmente se as auxinas forem aplicadas simultaneamente (VILLA et al., 2006). Ainda, é sabido que o efeito do GA_3 na proliferação de brotações, além de variar conforme a interação com outros reguladores de crescimento, é dependente da espécie que está sendo propagada (GEORGE, 1996).

2.5.2 Fotoperíodo

A formação de tubérculos e demais órgãos de reserva em plantas, além do florescimento, podem ser controlados por fatores ambientais como fotoperíodo, temperatura e luz (JACKSON et al., 1998; KERBAUY, 2008). Em mandioquinha-salsa a floração é observada ocasionalmente na região andina (Hermann, 1997), enquanto no Brasil é frequente, especialmente nos estados do sul de Minas Gerais, São Paulo e Paraná acima de 900 m de altitude (ZANIN e CASALI, 1984a). Isto decorre do fato de que as variações sazonais de temperatura e fotoperíodo no Brasil são muito mais pronunciadas do que na região de origem e têm sido relacionadas ao padrão sazonal de floração da espécie (HERMANN, 1997).

Zanin e Casali (1984a) propuseram que, no Brasil, as baixas temperaturas e/ou dias curtos induzem a floração de mandioquinha-salsa. A floração também parece depender do genótipo, como demonstrado por Bajaña (1994) e ao estresse hídrico, conforme observações de Santos (1994).

De acordo com Zárate et al. (2008), as plantas de mandioquinha-salsa também podem apresentar taxas variáveis de crescimento e desenvolvimento de suas partes vegetativas em função da época do ano, sobretudo em função do

decréscimo no fotoperíodo. De acordo com Somasundaram e Mithra (2008), o desenvolvimento de raízes é estimulado por fotoperíodos curtos (13 horas). Entretanto, Bonsi et al. (1994) e Mortley et al. (2009) afirmam que fotoperíodos longos, 18 e 24 horas, respectivamente, promovem maior produtividade de raízes tuberosas que fotoperíodos curtos.

Assim, o efeito mais conhecido do fotoperíodo é a regulação da floração e tuberização em muitas espécies de plantas, no entanto, o fotoperíodo também pode afetar o crescimento ou a morfogênese de explantes cultivados *in vitro* (GEORGE et al., 2008; HERINGER et al., 2017). Murashige (1979) apontou que plantas que necessitam de fotoperíodos específicos para o crescimento e desenvolvimento vegetativo são muito prováveis de manifestar essa necessidade durante o cultivo *in vitro*. Contudo, o fotoperíodo necessário para a floração pode não ser o mesmo para a regeneração ótima de brotos e raízes, ou para a proliferação de brotos (GEORGE et al., 2008).

Tal como acontece com outras respostas de plantas que são naturalmente reguladas pela luz, alguns dos efeitos que o fotoperíodo pode ter na morfogênese podem ser substituídos por adições de reguladores de crescimento sintéticos ao meio de cultura. Às vezes, no entanto, o fotoperíodo correto é indispensável (GEORGE et al., 2008). Esse fato foi observado por Hilding e Welander (1976) que descobriram que a combinação mais eficaz de auxina e citocinina para induzir a morfogênese em explantes de *Begonia hiemalis* variou de acordo com o cultivo das plantas em diferentes fotoperíodos (longos ou curtos). Os explantes desta espécie só produziram brotos e raízes adventícias em plantas cultivadas em fotoperíodos de 15-16 horas por dia.

Nesse sentido, tanto a formação quanto o crescimento de órgãos vegetativos e a floração podem ser influenciados pelo fotoperíodo sob o qual as culturas *in vitro* são mantidas e, ainda, o fotoperíodo mais favorável pode variar de um gênero para outro (GEORGE et al., 2008).

2.6 Diversidade genética em mandioquinha-salsa

A mandioquinha-salsa cultivada no Brasil restringe-se a poucos

genótipos, com características semelhantes e grande uniformidade genética, possivelmente, decorrente do reduzido número de cultivares introduzidas no País e do fato de a cultura ser reproduzida vegetativamente (PORTZ et al., 2003; SEDIYAMA et al., 2009). Alvarado e Ochoa (2010) relatam que os agricultores tendem as cultivares apenas dois genótipos, não considerando se a luz, o solo e a temperatura são adequados para a cultura, o que leva a uma redução no número de genótipos e, por sua vez, perda da agrobiodiversidade.

No Brasil, há poucos estudos com objetivo de avaliar a diversidade genética dos genótipos de mandioquinha-salsa. Nesse sentido, muitos métodos e técnicas têm sido desenvolvidos para gerenciamento e utilização de recursos genéticos, entre os quais destacam-se as ferramentas moleculares (CHEN et al., 2020).

As técnicas moleculares possibilitam detectar polimorfismos a nível de DNA e podem gerar muitos marcadores moleculares para análises genéticas dos indivíduos (FALEIRO, 2007). Os marcadores moleculares são características de DNA que diferenciam dois ou mais indivíduos e são herdadas geneticamente (MILACH, 1998). A caracterização através de marcadores moleculares é uma ferramenta valiosa que apresenta diversas vantagens como a independência dos fatores ambientais e o alto nível de polimorfismo que se pode encontrar distribuído pelo genoma (FONSECA-TRUJILLO et al., 2009).

Desde 1980, diversos marcadores moleculares foram desenvolvidos e aplicados, tais como marcadores RFPL (polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição) (BOTSTEIN et al., 1980), SSRs/microsatélites (sequências simples repetidas) (HAMADA et al., 1982; LITT e LUTY, 1989), minissatélites/VNTRs (número variável de repetições em tandem) (JEFFREYS et al., 1985), RAPD (DNA polimórfico amplificado ao acaso) (WILLIAMS et al., 1990), AFLP (polimorfismos de comprimento de fragmentos amplificados) (ZABEAU, 1993; VOS et al., 1995), SCAR (regiões amplificadas a partir de sequências caracterizadas) (PARAN e MICHELMORE, 1993), SNP (polimorfismos de sequência nucleotídica) (CHO et al., 1999), entre outros. Desde então, muitas técnicas foram desenvolvidas e têm agido como ferramentas versáteis em distintas áreas.

Existem diversas questões que envolvem o uso apropriado dos

marcadores genéticos disponíveis, incluindo questões metodológicas de obtenção e análise destes marcadores, principalmente, quando são analisados grande número de acessos, questões financeiras relacionadas à infraestrutura e material de custeio necessário (FALEIRO, 2007; MACHADO e SILVA, 2013). Ainda, uma série de outros fatores relacionados com o organismo alvo e a sua complexidade do genoma também desempenham um papel importante na seleção do marcador ou na tecnologia a ser utilizada. Da mesma maneira, a escolha do marcador deve ser adequada para atender aos objetivos do estudo em questão (TURCHETTO et al., 2017).

Dentre os vários marcadores moleculares disponíveis atualmente os marcadores SSRs são ideais para estudos de genética e evolução de populações naturais (SLATKIN, 1995). Os SSRs são fragmentos genômicos que consistem em unidades repetidas em tandem que estão presentes em regiões codificantes e não codificantes do genoma (JAIN et al., 2014). Tais marcadores apresentam alto poder discriminatório, confiabilidade, praticidade operacional e robustez (SLATKIN, 1995). Ainda, estes marcadores têm ampla aplicabilidade em estudos de parentesco, fluxo gênico e estrutura genética de populações naturais, por apresentarem um padrão de herança mendeliana aliado as elevadas taxas de polimorfismo, capazes de gerar um alto conteúdo informativo (OLIVEIRA et al., 2006).

A caracterização de germoplasma por meio de marcadores SSRs tem sido realizada em espécies da família Apiaceae, tais como cenoura (*Daucus carota*) (NIEMANN et al., 1997; BARANSKI et al., 2012; MAKSYLEWICZ e BARANSKI, 2013), aipo (*Apium graveolens*) (ACQUADRO et al., 2006; CAVAGNARO et al., 2011; WANG et al., 2011; LI et al., 2014) e erva-doce (*Foeniculum vulgare*) (FIORE et al., 2008.; SCARIOLO et al., 2022).

No entanto, o emprego da tecnologia dos microsatélites envolve algumas limitações, como a grande quantidade de trabalho necessário para o desenvolvimento de *primers* específicos para os locos de microsatélites de cada espécie. Entretanto, ocorre conservação de sítios microsatélites entre espécies relacionadas, possibilitando aproveitar *primers*, denominados heterólogos, que foram desenvolvidos para uma espécie e empregá-los nas demais espécies do gênero (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998). Nesse contexto, os marcadores moleculares

SSRs exercem um papel importante na caracterização da diversidade genética em plantas.

2.7 A análise bibliométrica

A bibliometria é o ramo da ciência da informação que tem como função a avaliação da produção científica, a geração de informações e o apoio ao processo de decisão referente à elaboração e execução da política de alocação de recursos à pesquisa científica (FRANCA, 2012). O termo “bibliometria” refere-se a um estudo quantitativo que fornece informações com a aplicação de análises estatísticas e matemáticas, com o objetivo de produzir conhecimento, com vistas a futuras pesquisas ou intervenções (SANTOS et al., 2020).

Conforme Nicholas e Ritchie (1978), a diferença essencial entre a tradicional bibliografia e a bibliometria é que esta utiliza mais métodos quantitativos do que discursivos. Assim, a utilização de métodos quantitativos na busca por uma avaliação objetiva da produção científica é o ponto central da bibliometria (ARAÚJO, 2006). A partir dos dados estatísticos elaborados por meio de análises bibliométricas, é possível avaliar a contribuição do conhecimento científico em uma área, possibilitando observar tendências e elaborar novos estudos sobre o assunto (SU; LEE, 2010).

A importância da bibliometria está na análise das citações ou referências incluídas nas publicações, que mostram ligações entre as publicações e evidenciam os pesquisadores/autores e instituições (FRANCA, 2012; CHUEKE e AMATUCCI, 2015). Ainda, a bibliometria permite mapear os estudos mais expressivos em cada área, mostrando o número de citações e fornecendo os resultados mais recentes obtidos em um determinado campo ou tema de investigação (FRANCA, 2012).

De acordo com Araújo (2006), existe uma rede de pesquisadores envolvidos com o desenvolvimento e a aplicação de métodos e técnicas bibliométricas. Entre os principais grupos de pesquisa destacam-se o BIRG (Sydney, Austrália), o CEST (Berna, Suíça), o CINDOC (Madrid, Espanha), o CIS

(Copenhague, Dinamarca), o CRRM (Marselha, França), o CWTS (Leiden, Holanda), o FhG-ISI (Karlsruhe, Alemanha), o Inforsk (Umeå, Suécia), o OST (Montreal, Canadá), a OST (Paris, França), o SPRU (Sussex, Inglaterra), e o ISI Research Service Group (Filadélfia, EUA).

Nesse sentido, o uso de dados bibliométricos como indicadores da produção científica passou a ser cada vez mais frequente, diante das ações que vêm sendo desenvolvidas com o intuito de dispor desses indicadores para o planejamento das atividades de pesquisa científica (MUGNANI et al., 2004). A realização de análise bibliométrica da produção científica leva à geração de informações importantes para a avaliação e melhoria da qualidade da produção acadêmica, contribuindo para otimizar a tomada de decisão do pesquisador (Franca, 2012; VASCONCELOS, 2014).

3 ASSUNTO 1 – CULTIVO *in vitro* DE MANDIOQUINHA-SALSA

3.1 Introdução ao assunto 1

A mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) é uma raiz reconhecida na maioria dos países latino-americanos e nas regiões andinas por representar um alimento tradicional (NOGUERA e PACHECO, 2000). Apesar da origem andina, o principal produtor de mandioquinha-salsa no mundo é o Brasil, com 8.168 hectares plantados e produção de 109.217 toneladas (GARNICA MONTAÑA et al., 2021).

A planta de mandioquinha-salsa produz várias raízes laterais, que constituem a parte comestível, um rizoma central (cormo) e vários caules ou brotos laterais curtos (cormelos), que servem como propágulos, além de folhagem exuberante (KNUDSEN et al., 2006). A propagação da mandioquinha-salsa é realizada por meio da propagação vegetativa, a partir dos brotos que crescem na parte aérea da planta. Ao contrário das sementes sexuadas, as plantas propagadas vegetativamente mantêm a uniformidade e as características do clone que as originou (BURGOS et al., 2006).

Entretanto, seu longo ciclo de produção, de 8 a 12 meses, a predispõe ao ataque de uma série de insetos, com destaque para o ácaro-rajado, pulgões e brocas que podem reduzir a produtividade e causar dano econômico. A estreita base genética do material propagado vegetativamente, o cultivo em pequenas propriedades agrícolas e a troca desse material propagativo entre produtores podem contribuir para a disseminação de pragas (FORNAZIER et al., 2018). Ainda, os pulgões são potenciais transmissores de viroses, que já foram descritos por infectar plantas de mandioquinha-salsa no Brasil (ORÍLIO et al., 2013; ORÍLIO et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2017; ORÍLIO et al., 2018). Estes fatores, entre outros, têm limitado a produção de mudas de qualidade e, conseqüentemente, a redução da produtividade nos plantios comerciais.

Deste modo, a utilização de técnicas da cultura de tecidos vegetais, como a propagação vegetativa *in vitro* ou micropropagação, apresenta-se como uma alternativa para a produção de mudas de mandioquinha-salsa. A propagação

vegetativa *in vitro* possibilita produzir grande número de mudas idênticas à planta mãe, em períodos relativamente curtos, sem a necessidade de grandes quantidades de matrizes. Assim, viabiliza a produção de mudas mais uniformes e de alta qualidade sanitária, em comparação à propagação vegetativa convencional (TORRES et al., 1988; TRIGIANO e GRAY, 2005).

Em mandioquinha-salsa alguns estudos de micropropagação têm sido realizados no Brasil e exterior com o intuito de identificar o meio nutritivo, tipo de explante e reguladores de crescimento mais adequado ao estabelecimento e à multiplicação *in vitro* dos genótipos (SENNA NETO, 1990; CASTILLO, 1991; LUZ, 1993; PESSOA et al., 1994; LUZ et al., 1997; MADEIRA et al., 2005; SLÍVA et al., 2010; MATOS et al., 2015). No entanto, no que se refere ao efeito do fotoperíodo não existem referências de pesquisas, apesar de sua reconhecida importância no florescimento e tuberização (ZANIN e CASALI, 1984a; VILLORDON et al., 2010) e na morfogênese de explantes cultivados *in vitro* (GEORGE et al., 2008; HERINGER et al., 2017) uma vez que os estudos realizados até o momento utilizaram fotoperíodo padrão de 16 horas.

Neste sentido, pesquisas visando elucidar o efeito do fotoperíodo, das cultivares e de substâncias reguladoras de crescimento, são fundamentais para o conhecimento básico sobre a sinalização das rotas morfogenéticas *in vitro*, bem como para o conhecimento aplicado relacionado à utilização de metodologias alternativas para a propagação de hortaliças tuberosas, especialmente a mandioquinha-salsa.

Os objetivos deste trabalho foram avaliar o efeito do fotoperíodo sobre o desenvolvimento *in vitro* de cultivares de mandioquinha-salsa, avaliar às respostas *in vitro* de diferentes cultivares e o efeito de combinações de GA₃ e AIB sobre as respostas morfogenéticas de cultivares de mandioquinha-salsa.

3.2 Procedimentos metodológicos do assunto 1

Os experimentos de cultivo *in vitro* foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos, do Departamento Acadêmico de Ciências Agrárias da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Pato Branco, Pato

Branco, Brasil.

Foram desenvolvidos três experimentos, sendo que no primeiro (3.2.1) avaliou-se o efeito do fotoperíodo em diferentes cultivares de mandioquinha-salsa. No segundo experimento (3.2.2) estudou-se as respostas *in vitro* de diferentes cultivares e o terceiro experimento (3.2.3) refere-se as respostas *in vitro* de cultivares de mandioquinha-salsa submetidas a combinações de GA₃ e AIB.

3.2.1 Efeito do fotoperíodo em diferentes cultivares de mandioquinha-salsa

3.2.1.1 Obtenção do material vegetal

O material vegetal foi obtido a partir de plantas matrizes das cultivares de mandioquinha-salsa Amarela de Senador Amaral (ASA), BRS Catarina 64 e BRS Rubia 41. As plantas matrizes foram coletadas a campo, no município de Pato Branco, no mês de maio de 2020 e aproximadamente 250 dias após o plantio. As matrizes selecionadas apresentavam-se vigorosas e com aspecto sadio, ou seja, ausência de sintomas visíveis de doenças. Depois de colhidas, as plantas foram mantidas em bandejas à temperatura ambiente para cicatrização das coroas (touceiras) durante 14 dias.

3.2.1.2 Assepsia e isolamento

Após a cicatrização das coroas foi efetuada a desinfestação do material. Para tanto, tecidos de reserva (rebentos) com aproximadamente 2,5 cm de base e 3 cm de pecíolo (Figura 1A) foram destacados, na sala de pré-limpeza, e submetidos à pré-desinfestação por meio da lavagem em água corrente durante 10 minutos. Na sequência, o material foi desinfestado por imersão em álcool 70% por 3 minutos, seguido da imersão em hipoclorito de sódio a 4%, acrescido de 3 gotas L⁻¹ de Tween 20, mantendo-se sob agitação por 20 minutos. Posteriormente, foi realizada uma nova redução dos tecidos de reserva, deixando-os com tamanho aproximado de 3 cm, e mantendo-se uma base em torno de 1 cm (Figura 1B).

Em câmara de fluxo laminar, os tecidos de reserva foram novamente desinfestados por meio da imersão em álcool 70% por 1 minuto, seguido de imersão em hipoclorito de sódio a 2% com 30 gotas L⁻¹ de Tween 20 por 20 minutos, seguido então, de triplo enxágue em água autoclavada. Após o processo de desinfestação, com auxílio de pinça e bisturi e sob lupa estereoscópica com aumento de até 40 vezes, foram efetuadas novas reduções no tamanho do tecido de reserva (Figura 1C) até a retirada dos ápices caulinares, com aproximadamente 2 mm, que constituíram os explantes (Figura 1D).

Figura 1 – Material vegetal utilizado para a obtenção de explantes de mandiquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft). A) Tecido de reserva após lavagem em água corrente. B) Tecido de reserva após nova redução do tamanho. C) Tecido de reserva, visualizado sob lupa estereoscópica, com seta (►) indicando o ápice caulinar. D) Ápice caulinar visualizado em lupa estereoscópica após excisão do tecido de reserva. Barra = 1 cm. UTFPR, Pato Branco, 2022.



Fonte: CANDIDO, D. F., 2022.

3.2.1.3 Meio de cultura e incubação

Os explantes foram introduzidos individualmente em tubos de ensaio, contendo 10 mL de meio de cultura B5 (GAMBORG et al., 1968) previamente autoclavado a 120 °C e 1 atm. de pressão por 20 minutos. O meio foi suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 7 g L⁻¹ de ágar, 0,3 mg L⁻¹ de BAP (6-benzilaminopurina) e 0,1 mg L⁻¹ de ANA (ácido naftaleno acético), sendo o pH ajustado para 5,8 (MADEIRA et al., 2005). Os tubos de ensaio foram vedados com papel-alumínio e mantidos em incubadoras tipo B.O.D. com temperatura de 22 ± 2 °C e intensidade luminosa em torno 20 µmol m⁻² s⁻¹, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias.

Os tratamentos consistiram em 10, 12 e 14 horas de fotoperíodo e das cultivares Amarela de Senador Amaral (ASA), BRS Catarina 64 e BRS Rubia 41. O experimento foi conduzido sob arranjo bifatorial 3x3 (cultivares x fotoperíodos), em delineamento inteiramente casualizado com três repetições de 10 tubos cada, totalizando 30 tubos por tratamento.

Aos 30 dias após a introdução, as plantas obtidas a partir deste experimento foram avaliadas e transferidas para novos tubos de ensaio, contendo o mesmo meio de cultura. Em seguida, foram mantidas em incubadora tipo B.O.D. sob fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 22 ± 2°C. Após 30 dias, as brotações regeneradas foram utilizadas nos experimentos 3.2.2 e 3.2.3, descritos a seguir.

3.2.2 Resposta *in vitro* de diferentes cultivares de mandiocinha-salsa

Os tratamentos consistiram das cultivares Amarela de Senador Amaral (ASA), BRS Catarina 64 e BRS Rubia 41. Foram utilizados como explantes as brotações resultantes do experimento 3.2.1, excisadas com 30 dias de cultivo.

Os explantes foram inoculados individualmente em tubos de ensaio contendo 10 mL do meio de cultura descrito no item 3.2.1.3. Em seguida, os tubos foram vedados com papel-alumínio e mantidos em incubadoras tipo B.O.D. com temperatura de 22 ± 2 °C, fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa em torno 20 µmol m⁻² s⁻¹, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias. O experimento

foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três repetições de 9 tubos cada, totalizando 27 tubos por tratamento.

Visando o enraizamento *ex vitro* e a aclimatização, as plantas obtidas a partir do cultivo *in vitro* foram transplantadas em copos plásticos com capacidade para 300 mL contendo substrato vermiculita autoclavada por 15 minutos a 120°C. No momento da retirada dos tubos de ensaio, para realizar o transplante, as plantas foram lavadas para remover o excesso de meio de cultura aderido aos calos (MADEIRA, 2004).

Os copos plásticos foram mantidos sobre bancada de laboratório em condições ambiente. Duas vezes por semana, as plantas foram irrigadas com solução de nutrientes do meio B5, reduzido à metade da concentração dos sais.

3.2.3 Resposta *in vitro* de cultivares de mandioquinha-salsa submetidas a combinações de GA₃ e AIB

Os explantes (brotações) utilizados neste experimento foram provenientes do experimento descrito em 3.2.1. Os tratamentos consistiram em combinações de reguladores de crescimento (GA₃ a 0,2 mg L⁻¹ e GA₃ a 0,2 mg L⁻¹ + AIB a 0,05 mg L⁻¹) e das cultivares de mandioquinha-salsa (Amarela de Senador Amaral (ASA), BRS Catarina 64 e BRS Rubia 41).

Os explantes foram inoculados individualmente em tubos de ensaio contendo 10 mL do meio de cultura. Em seguida, os tubos foram vedados com papel-alumínio e mantidos em incubadoras tipo B.O.D. com temperatura de 22 ±2 °C, fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa em torno 20 μmol m⁻² s⁻¹, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias. O experimento foi conduzido sob arranjo bifatorial 3x2 (cultivares x reguladores de crescimento), em delineamento inteiramente casualizado com três repetições de 9 tubos cada, totalizando 27 tubos por tratamento.

Da mesma maneira que no experimento anterior, as plantas obtidas a partir do cultivo *in vitro* foram transplantadas visando o enraizamento *ex vitro* e a aclimatização. Para tanto, realizou-se o transplante em bandejas de poliestireno expandido (isopor). As bandejas foram previamente desinfetadas com hipoclorito

de sódio 5% durante 1 minuto e, em seguida, pulverizadas com solução de sulfato de cobre a 5 g L⁻¹. Após, foi realizada a lavagem das bandejas em água corrente para remover os produtos utilizados na desinfecção.

No momento da retirada dos tubos de ensaio, para realizar o transplântio, as plantas foram lavadas para remover o excesso de meio de cultura aderido aos calos (MADEIRA, 2004). O plantio ocorreu em substrato Plantmax® + vermiculita, na proporção 1:1, esterilizados em autoclave por 15 minutos em temperatura de 120 °C.

O sistema de irrigação utilizado foi por flutuação, obtido pela manutenção permanente de lâmina d'água de 2 a 3 cm sob as bandejas. As bandejas foram mantidas em casa de vegetação, com temperatura regulada para 22 °C, e cobertas com tela de sombreamento 30%.

3.2.4 Variáveis analisadas

Aos 30 dias após a introdução avaliou-se a taxa de regeneração, número de brotos, número de folhas, número de raízes e porcentagem de calos. A taxa de regeneração foi dada pela razão entre o número de plantas viáveis obtidas pelo cultivo *in vitro* em relação ao total de explantes utilizados, onde foram consideradas como viáveis as plantas que produziram no mínimo um broto.

O número de brotos por planta obteve-se pela contagem dos brotos formados em cada planta. O número de folhas por planta foi obtido pela contagem simples das folhas formadas em cada planta, que continham folíolos visíveis. O número de raízes obteve-se pela contagem de raízes por planta.

Além das variáveis citadas, no experimento 3.2.1 avaliou-se também o percentual de contaminação (sendo a ocorrência de contaminantes junto aos explantes, independentemente do microrganismo causador). O percentual de contaminação é dado pela razão entre o número de plantas contaminadas durante o cultivo *in vitro* em relação ao total de explantes utilizados. Ainda, no experimento 3.2.3, avaliou-se também o comprimento do maior broto (cm) obtido pela medida da base até seu ápice.

3.2.5 Análise estatística

A normalidade dos erros foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e quando o valor de F foi significativo, utilizou-se o teste de Tukey a 5% de significância. Nos experimentos fatoriais, quando houve interação significativa entre os fatores foram realizados os desdobramentos pertinentes. Os dados foram analisados com o auxílio do software R® (R CORE TEAM, 2020).

3.3 Resultados e discussões do assunto 1

3.3.1 Efeito do fotoperíodo em diferentes cultivares de mandioquinha-salsa

Com base nas combinações de fotoperíodo, nas cultivares de mandioquinha-salsa e suas possíveis interações, foram obtidos os resultados apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Resumo da análise de variância para percentual de contaminação, taxa de regeneração, número de brotos, número de folhas, número de raízes e porcentagem de calos em plântulas de mandioquinha-salsa em função da combinação de diferentes cultivares e fotoperíodos. UTFPR, Pato Branco, 2022.

FV	GL	Quadrado Médio					
		Contam. (%)	Taxa regen. (%)	Nº brotos	Nº folhas	Nº raízes	Calos (%)
Cultivar	2	25,9259 ^{ns}	101,6292 ^{ns}	0,1337 ^{ns}	0,1433 ^{ns}	0,0338 ^{ns}	5056,4815*
Fotoperíodo	2	48,1481 ^{ns}	15,1070 ^{ns}	0,0181 ^{ns}	0,4300 ^{ns}	0,0048 ^{ns}	584,2593 ^{ns}
Cult. x Fotop.	4	114,8148 ^{ns}	49,1237 ^{ns}	0,0515 ^{ns}	0,1433 ^{ns}	0,0142 ^{ns}	547,2037 ^{ns}
Resíduo	18	96,2963	83,4774	0,1285	0,1948	0,0104	236,2222
Total	26						
CV (%)		115,2	10,3	19,2	41,8	124,9	34,6
Média geral		8,5	88,6	1,8	1,1	0,1	44,4

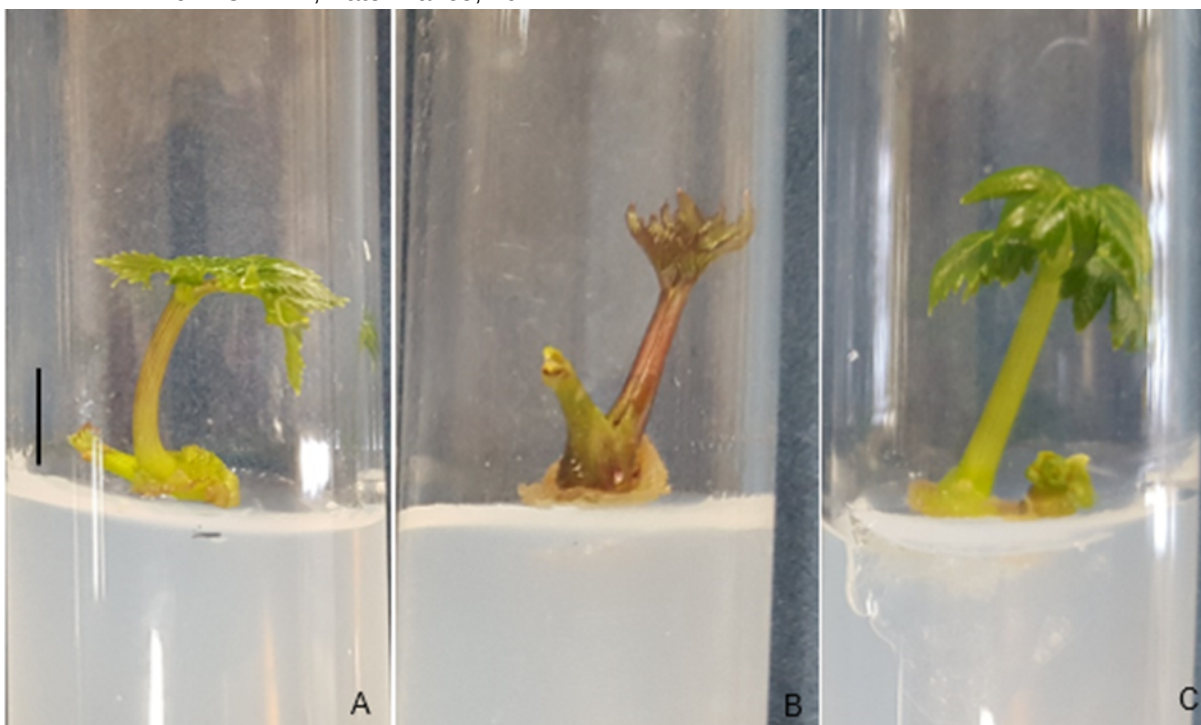
FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; CV: coeficiente de variação; ^{ns}não significativo; *significativo a 5% de probabilidade.

Fonte: CANDIDO, D. F., 2022.

De acordo com a Tabela 1, não se verifica interação significativa entre

as fontes de variação para as variáveis avaliadas nem efeito isolado dos fatores, exceto para o percentual de calos. A média geral de contaminação foi de 8,5% e 88,6% das plantas regeneraram, contendo em média 1,8 brotos, 1,1 folhas e 0,1 raízes por planta (Figura 2).

Figura 2 – Plântulas de mandiquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) obtidas *in vitro* a partir de ápices caulinares cultivados em meio B5 suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 0,3 mg L⁻¹ de BAP e 0,1 mg L⁻¹ de ANA. A) Plântulas da cultivar Amarela de Senador Amaral. B) Plântulas da cultivar BRS Catarina 64. C) Plântulas da cultivar BRS Rubia 41. Barra = 1 cm. UTFPR, Pato Branco, 2022.



Fonte: CANDIDO, D. F., 2022.

O percentual médio de contaminação foi relativamente baixo assim como no estudo de Madeira et al. (2005) que obteve apenas 8,4% de contaminação o que demonstra que a metodologia de desinfestação utilizada foi eficiente. De acordo com Castillo (1991), um dos principais problemas para o cultivo *in vitro* de mandiquinha-salsa é a contaminação devido a bactérias endógenas. No presente trabalho, no entanto, a contaminação não foi um fator limitante para o desenvolvimento *in vitro* de mandiquinha-salsa.

Em relação ao número de brotos, Matos et al. (2015) sugerem que uma menor relação auxina/citocinina seria mais favorável à proliferação de brotos. No entanto, os autores afirmam que a concentração de 0,3 mg L⁻¹ de BAP é suficiente e concentrações maiores não incrementariam o número de brotos.

Destaca-se que o alto valor do CV verificado para o percentual de contaminação deve-se ao fato de que a contaminação foi extremamente reduzida. Em função disso, quando houve contaminação esporádica, em um ou outro tubo, observou-se um elevado valor para a variabilidade, gerando um CV muito alto. Da mesma maneira, para o número de raízes, o alto valor do CV é resultado do reduzido número de raízes formadas. Apesar disso, os dados foram analisados sem necessidade de transformação, uma vez que apresentaram distribuição normal.

É de conhecimento que o fotoperíodo interfere no desenvolvimento das plantas apesar de não ter apresentado efeito significativo nas condições testadas. O fotoperíodo interfere no cultivo de *Arabidopsis* e regula estágios como germinação (MUNIR et al., 2001), alongamento do hipocótilo (MARTÍN et al., 2018) e floração (ZHENG et al., 2019). Em plantas tuberosas, fotoperíodos curtos podem antecipar e acelerar o processo de tuberização, que por sua vez limitará o desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular, assim como a diminuição da área foliar. Por outro lado, fotoperíodos longos podem favorecer rendimentos maiores pelo aumento da parte aérea e duração da área foliar (BURTON, 1966).

Carvalho et al. (2007) investigando o efeito do fotoperíodo (12 e 16 horas) em plantas de ornamental (*Ananas comosus* var. *ananassoides*), cultivadas em meio MS adicionado de BAP e ANA, também não observaram efeito do fotoperíodo na multiplicação *in vitro* da cultura.

Ao contrário do resultado obtido neste experimento, Figueiredo et al. (2018) observam efeitos significativos do fotoperíodo em fisális (*Physalis peruviana*), uma planta de origem andina assim como a mandioquinha-salsa. Os autores observaram que o comprimento da parte aérea foi maior no fotoperíodo de 16 h, enquanto as raízes desenvolveram melhor no fotoperíodo mais curto (8 h). O número de folhas, entretanto, não foi influenciado pelo fotoperíodo.

Trabalhando com segmentos nodais de batata-inglesa (*Solanum tuberosum*) em meio MS, Kozai et al. (1995) observaram que o crescimento radicular foi suprimido em fotoperíodo curto (8 h), enquanto em fotoperíodo mais longo (16 h) potencializou-se o crescimento das raízes, produziram-se plântulas de caule curto e grosso com número semelhante e maior área de folhas, obtendo-se os maiores pesos fresco e seco sem perda de porcentagem de matéria seca.

Em espécies de inhame (*Dioscorea* spp.), o número de folhas formadas a partir de segmentos nodais, foi maior no fotoperíodo de 8 h quando comparado aos demais (10, 12 e 24 h) (CHU e RIBEIRO, 2002). Por outro lado, em segmentos nodais de ginseng-brasileiro (*Pfaffia glomerata*) fotoperíodos mais longos melhoraram os parâmetros de crescimento dos explantes (FORTINI et al., 2020).

Em relação à formação de calos, conforme apresentado na Tabela 1, houve efeito significativo para as cultivares avaliadas. Pode-se observar que o menor percentual de calos foi verificado na cultivar Amarela de Senador Amaral (ASA), seguido da cultivar BRS Rubia 41 e BRS Catarina 64 (Tabela 2).

Tabela 2 – Dados médios do percentual de contaminação, taxa de regeneração, número de brotos, número de folhas, número de raízes e porcentagem de calos das cultivares de mandiocinha-salsa Amarela de Senador Amaral (ASA), BRS Catarina 64 e BRS Rubia 41. UTFPR, Pato Branco, 2022.

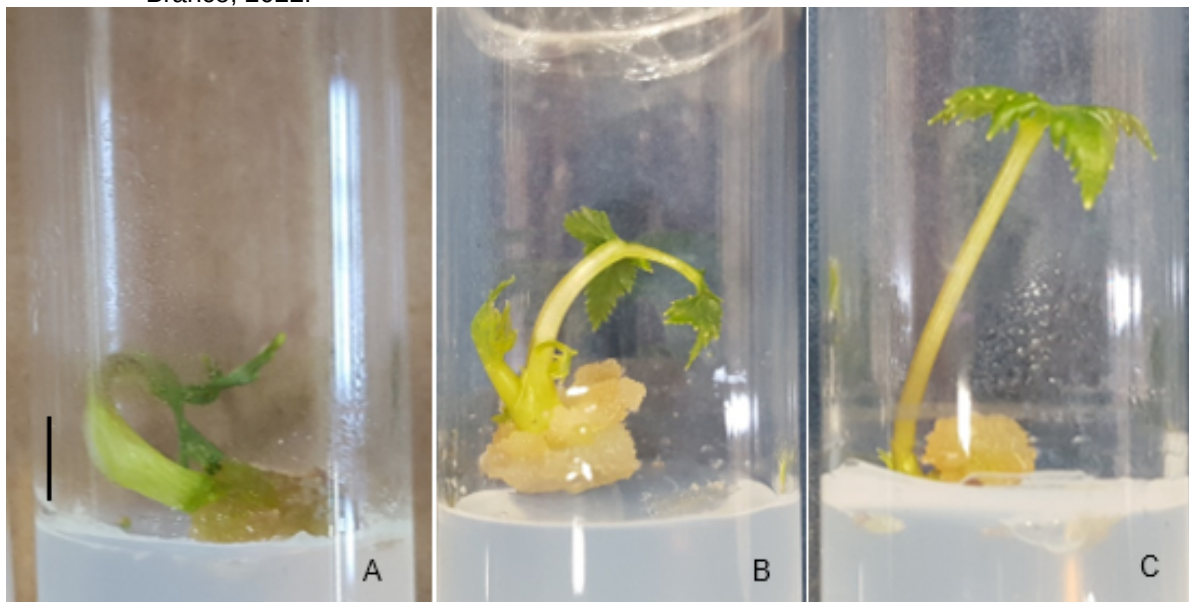
Cultivares	Contam. (%)	Taxa reg. (%)	Nº brotos	Nº folhas	Nº raízes	Calos (%)
ASA	8,9a*	86,3a	1,9a	1,1a	0,1a	19,6a
BRS Catarina 64	6,7a	92,4a	1,9a	0,9a	0,0a	66,8c
BRS Rubia 41	10,0a	86,9a	1,8a	1,1a	0,1a	46,8b

* Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.
Fonte: CANDIDO, D. F., 2022.

O desenvolvimento dos calos (Figura 3) ocorreu, provavelmente, em função da interação genótipo x ambiente. Neste caso, as cultivares responderam de maneira diferente ao meio de cultura e aos reguladores de crescimento utilizados, uma vez que não houve efeito para o fotoperíodo. É conhecido que muitos efeitos dependentes do genótipo são causados por interações entre o genótipo da planta e o ambiente de cultivo (GEORGE et al., 2008; HERNÁNDEZ, 2014). De acordo com Grattapaglia e Machado (1998), a ocorrência de calos na base das plantas pode ocorrer em consequência da elevada concentração de auxinas no meio de cultivo, comprometendo o desenvolvimento das raízes e da parte aérea.

Os calos são indesejáveis por serem potenciais promotores de modificações genéticas e por exaurirem os nutrientes do meio de cultura em detrimento da formação de folhas e raízes (CASTILLO, 1991). Madeira et al. (2005) destacam que a formação de calos nos explantes pode ser reduzida com o aumento da concentração de BAP no meio de cultura. No entanto, não se pode aumentar muito a concentração de BAP em relação à ANA, pois à medida que se aumenta a relação BAP/ANA, ocorre menor desenvolvimento da parte aérea.

Figura 3 – Presença de calos na base de plântulas de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) obtidas *in vitro* a partir de ápices caulinares cultivados em meio B5 suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 0,3 mg L⁻¹ de BAP e 0,1 mg L⁻¹ de ANA. A) Calo em plântula da cultivar Amarela de Senador Amaral. B) Calo em plântula da cultivar BRS Catarina 64. C) Calo em plântula da cultivar BRS Rubia 41. Barra = 1 cm. UTFPR, Pato Branco, 2022.



Fonte: CANDIDO, D. F., 2022.

Os resultados deste experimento sugerem, de modo geral, que o desenvolvimento *in vitro* das cultivares de mandioquinha-salsa avaliados independe do fotoperíodo utilizado. Em função disso, os demais experimentos foram conduzidos sob fotoperíodo de 12 horas, de maneira semelhante ao fotoperíodo que ocorre na região de origem da cultura.

3.3.2 Resposta *in vitro* de diferentes cultivares de mandioquinha-salsa

Com base no desenvolvimento das cultivares de mandioquinha-salsa, foram obtidos os resultados apresentados na Tabela 3. Observa-se que as cultivares responderam de maneira distinta em relação ao número de brotos e ao percentual de calos, enquanto para a taxa de regeneração, número de folhas e número de raízes não houve diferença entre cultivares.

Destaca-se que, assim como no experimento anterior (3.3.1) a média geral de regeneração foi alta (89,0%), enquanto o número de raízes por planta foi baixo (0,4), independente da cultivar. Com relação ao número de brotos por planta, as cultivares BRS Catarina 64 e BRS Rubia 41 formaram o maior número de brotos

(Tabela 4), e não diferiram significativamente entre si.

Tabela 3 – Resumo da análise de variância para a taxa de regeneração, número de brotos, número de folhas, número de raízes e porcentagem de calos em cultivares de mandioca-salsa. UTFPR, Pato Branco, 2022.

FV	GL	Quadrado Médio				
		Taxa regen. (%)	Nº brotos	Nº folhas	Nº raízes	Calos (%)
Cultivar	2	1091,2 ^{ns}	6,6811*	3,1211 ^{ns}	0,0078 ^{ns}	2722,33*
Resíduo	6	1091,2	1,1300	0,6333	0,0411	102,58
Total	8					
CV (%)		37,12	26,87	27,03	57,03	24,70
Média geral		89,0	4,0	2,9	0,4	41,0

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; CV: coeficiente de variação; ^{ns}não significativo; *significativo a 5% de probabilidade.

Fonte: CANDIDO, D. F., 2022.

Em meio de cultura com concentrações semelhantes de ANA e BAP, Matos et al. (2015) também observaram diferenças significativas no número de brotos quando avaliaram diferentes cultivares venezuelanas. A média obtida pelos autores foi de 4 brotos por explante, a mesma média obtida no presente trabalho.

Tabela 4 – Dados médios da taxa de regeneração, número de brotos, número de folhas, número de raízes e porcentagem de calos das cultivares de mandioca-salsa Amarela de Senador Amaral (ASA), BRS Catarina 64 e BRS Rubia 41. UTFPR, Pato Branco, 2022.

Cultivares	Taxa reg. (%)	Nº brotos	Nº Folhas	Nº raízes	Calos (%)
ASA	67,0a	2,2b	1,8a	0,4a	53,3b
BRS Catarina 64	100,0a	4,8a	3,5a	0,3a	6,8a
BRS Rubia 41	100,0a	4,9a	3,5a	0,4a	63,0b

* Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: CANDIDO, D. F., 2022.

Destaca-se que a cultivar Amarela de Senador Amaral (ASA), que apresentou o menor número de brotos (2,2) no presente estudo, também foi inferior em relação ao número de brotos (3,2) em estudo realizado por Madeira et al. (2005), que verificaram diferenças entre cultivares. Com relação a formação de calos, observa-se que o menor percentual foi obtido a cultivar BRS Catarina 64, que diferiu das demais.

Os reguladores de crescimento da classe das citocininas, adicionados ao meio de cultura para promover o crescimento de brotos axilares, geralmente inibem a formação de raízes (GEORGE et al., 2008). Uma alternativa consiste na transferência das brotações para substrato, ocorrendo simultaneamente, o

enraizamento das brotações e a aclimatização das mudas (YAN et al., 2010). Com relação ao enraizamento *ex vitro* e à aclimatização das plantas no presente trabalho, destaca-se que aos 7 dias após o transplante observou-se 100% de mortalidade das plantas.

3.3.3 Resposta *in vitro* de cultivares de mandioquinha-salsa submetidas a combinações de GA₃ e AIB

No presente experimento a taxa de regeneração obtida em todos os tratamentos foi de 100%. Este resultado se assemelha ao estudo de Matos et al. (2015), que também obtiveram 100% de regeneração em cultivares venezuelanas.

De acordo com a Tabela 5, é possível observar que exceto para o número de raízes, as demais variáveis foram influenciadas pelos tratamentos utilizados.

Tabela 5 – Resumo da análise de variância para número de brotos, comprimento de broto, número de folhas, número de raízes e porcentagem de calos em plântulas de mandioquinha-salsa em função da combinação de diferentes cultivares e reguladores de crescimento. UTFPR, Pato Branco, 2022.

FV	GL	Quadrado Médio				
		Nº brotos	Comp. broto (cm)	Nº Folhas	Nº raízes	Calos (%)
Cultivar	2	2,5658 ^{ns}	7,3619*	0,6424*	0,0108 ^{ns}	3539,9093*
Reguladores	1	22,8939*	2,3256*	4,2438*	0,0016 ^{ns}	1990,8051*
Cult. x Reg.	2	0,5484 ^{ns}	0,4159 ^{ns}	0,1072 ^{ns}	0,0016 ^{ns}	970,2013*
Resíduo	12	1,1297	0,2515	0,1623	0,0086	220,5903
Total	17					
CV (%)		19,21	9,94	16,89	248,42	26,73
Média geral		5,5	5,0	2,4	0,0	55,6

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; CV: coeficiente de variação; ^{ns}não significativo; *significativo a 5% de probabilidade.

Fonte: CANDIDO, D. F., 2022.

Com relação ao número de brotos e número de folhas (Tabela 6), verifica-se que a combinação entre GA₃ e AIB resultou na diminuição do número de brotos e, conseqüentemente, no número folhas por explante, quando comparado ao uso isolado de GA₃, independente da cultivar. Quoirin e Lepoivre (1977) relatam que para muitas espécies não é necessária a adição de auxina ao meio de cultura, que

pode reduzir ou inibir a formação de brotos ou favorecer demasiadamente a formação de raízes e calos, tornando-se prejudicial à propagação *in vitro* (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). Ainda, sabe-se a indução de brotos em função do GA₃ depende da espécie e da interação com outros reguladores de crescimento (GEORGE, 1996).

A combinação entre GA₃ e AIB resultou em brotos de maior comprimento (Tabela 6). De acordo com Kerbauy (2008), existem fortes evidências experimentais de que as giberelinas acompanhadas de auxinas promovem expansão celular por exercerem efeitos sobre a parede celular. Mas a relação entre esses dois hormônios quanto a esse fenômeno, ainda, é controversa.

Madeira et al. (2005) observaram que o aumento na concentração de GA₃, até 0,25 mg L⁻¹, promoveu elevação na altura média e máxima de brotações, demonstrando o efeito benéfico promovido por este regulador de crescimento no desenvolvimento *in vitro* de mandioquinha-salsa. No entanto, os autores não avaliaram o uso de AIB adicionado ao meio B5. Slíva et al. (2010) observaram em um estudo com mandioquinha-salsa, que a regeneração e o número de brotos tiveram efeito das concentrações e fontes de reguladores de crescimento adicionados ao meio de cultura.

Tabela 6 – Dados médios do número de brotos, comprimento de broto, número de folhas e número de raízes de cultivares de mandioquinha-salsa em resposta a diferentes combinações de reguladores de crescimento. UTFPR, Pato Branco, 2022.

Reguladores de crescimento	Nº brotos	Comp. broto (cm)	Nº folhas	Nº raízes
GA ₃ ¹	6,7a*	4,7b	2,9a	0,0a
GA ₃ + AIB ²	4,4b	5,4a	1,9b	0,0a

* Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

¹ GA₃ na concentração de 0,2 mg L⁻¹

² GA₃ + AIB nas concentrações de 0,2 mg L⁻¹ e de 0,05 mg L⁻¹, respectivamente.

Fonte: CANDIDO, D. F., 2022.

Ainda com relação à Tabela 6, observa-se que não houve formação de raízes quando o GA₃ foi adicionado ao meio de cultura isoladamente, nem quando houve a combinação com o AIB. Segundo Kochba et al. (1974), a presença de GA₃ no meio de cultura proporciona a iniciação de uma zona meristemática radicular e/ou estimula o desenvolvimento de uma zona radicular existente. Todavia, quando aplicado em concentrações relativamente elevadas, o GA₃ impede a formação de raiz, especialmente se as auxinas forem aplicadas simultaneamente.

Assim como no experimento 3.3.1, destaca-se que o alto valor do CV observado para o número de raízes, é resultado do reduzido número de raízes formadas. Em função disso, quando houve formação de raiz, em uma ou outra planta, observou-se um elevado valor para a variabilidade, gerando um CV elevado.

Em relação às respostas das diferentes cultivares (Tabela 7), observa-se que a cultivar BRS Catarina 64 apresentou o maior comprimento de broto, diferindo significativamente das demais cultivares. Na multiplicação *in vitro*, é importante estimular o crescimento de brotações laterais, mas os genótipos variam em seu grau natural de dominância apical, alguns produzem brotos longos enquanto outros têm brotos mais curtos, mas muitos laterais são formados.

Talvez genótipos com forte dominância apical possam ter um alto teor de auxina natural ou um sistema receptor de auxina mais sensível (GEORGE et al., 2008). Lopes et al. (2008), por exemplo, não observaram diferença estatística para o comprimento da parte aérea em função de diferentes cultivares e fontes e concentrações de reguladores de crescimento.

Tabela 7 – Dados médios do número de brotos, comprimento de broto, número de folhas e número de raízes das cultivares de mandioquinha-salsa Amarela de Senador Amaral (ASA), BRS Catarina 64 e BRS Rubia 41. UTFPR, Pato Branco, 2022.

Cultivares	Nº brotos	Comp. broto (cm)	Nº folhas	Nº raízes
ASA	5,3a*	5,0b	2,3ab	0,1a
BRS Catarina 64	6,3a	6,2a	2,7a	0,0a
BRS Rubia 41	5,0a	3,9c	2,1b	0,0a

* Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: CANDIDO, D. F., 2022.

No que se refere ao número de raízes (Tabela 7), assim como nos demais experimentos conduzidos, não se observou formação considerável de raízes, independentemente dos tratamentos. De maneira diferente aos resultados encontrados neste trabalho, Lopes et al. (2008) observaram que a ausência de reguladores de crescimento promoveu o aumento no número de raízes de mandioquinha-salsa, e atribuíram este resultado ao fato de o balanço hormonal endógeno desta espécie favorecer o enraizamento. Este fato pode ser comprovado em campo pela facilidade desta espécie ser propagada vegetativamente, sem a necessidade de tratamentos específicos para indução de formação de raízes.

Houve interação significativa entre as cultivares e os reguladores de crescimento para a porcentagem de calos (Tabela 8). A cultivar BRS Catarina 64

apresentou o maior percentual de calos (100%) quando cultivado na combinação de GA₃ + AIB. Enquanto o menor percentual de calos (16,7%) foi observado na cultivar BRS Rubia 41, cultivado em meio acrescido apenas de GA₃.

Tabela 8 – Dados médios da porcentagem de calos das cultivares de mandioquinha-salsa Amarela de Senador Amaral (ASA), BRS Catarina 64 e BRS Rubia 41 em resposta a combinação de diferentes reguladores de crescimento. UTFPR, Pato Branco, 2022.

Cultivares	Reguladores de Crescimento	
	GA ₃ ¹	GA ₃ + AIB ²
ASA	54,2bA*	45,8aA
BRS Catarina 64	64,3bA	100,0bB
BRS Rubia 41	16,7aA	52,4aB

* Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

¹ GA₃ na concentração de 0,2 mg L⁻¹

² GA₃ + AIB nas concentrações de 0,2 mg L⁻¹ e de 0,05 mg L⁻¹, respectivamente.

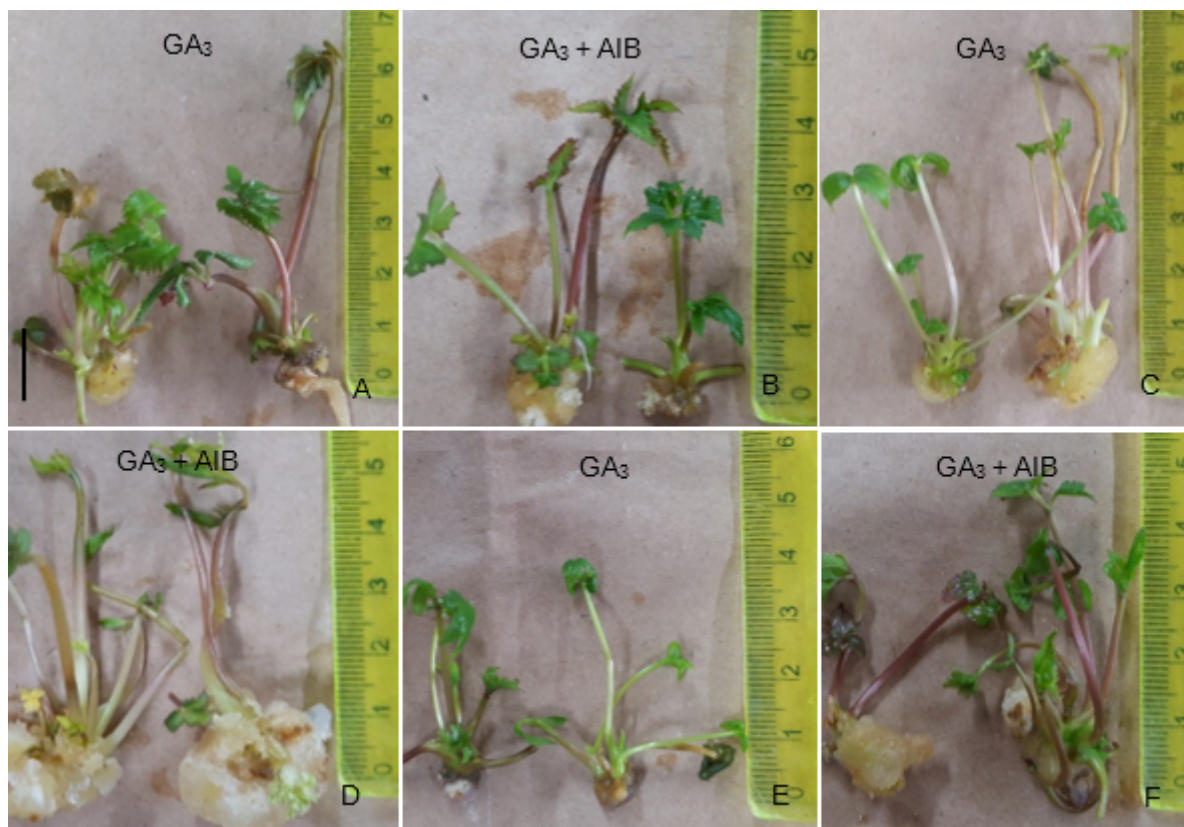
Fonte: CANDIDO, D. F., 2022.

Segundo Evans et al. (2003), as concentrações dos reguladores de crescimento estabelecidas para uma espécie no que se refere à formação de calos, não produzirão o mesmo efeito em outra espécie vegetal ou mesmo em outro tecido da mesma planta, uma vez que os tecidos possuem diferentes concentrações de hormônios endógenos que se somam aos efeitos da suplementação de reguladores de crescimento.

De maneira geral, a concentração ideal dos reguladores de crescimento depende dos padrões de absorção, translocação e metabolismo na planta. Assim, as concentrações efetivas de cada regulador de crescimento podem variar e necessitam ser ajustadas de acordo com o tipo de tecido ou órgão, via de regeneração, do estágio da cultura e respondem diferentemente a espécie e/ou genótipo dentro de uma espécie (LOPES, 2009).

A facilidade com que as raízes adventícias podem ser induzidas a se formar diretamente em brotos cultivados *in vitro* varia muito, às vezes até entre variedades da mesma espécie. Na fase de multiplicação, as plantas cultivadas geralmente não têm raízes e os brotos precisam ser alongados, nesse sentido, o enraizamento *ex vitro* é uma alternativa (GEORGE et al., 2008). Na Figura 4 observam-se plântulas de mandioquinha-salsa obtidas a partir dos diferentes tratamentos utilizados.

Figura 4 – Plântulas de mandiquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) obtidas *in vitro* a partir de ápices caulinares cultivados em meio B5 suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 0,3 mg L⁻¹ de BAP e 0,1 mg L⁻¹ de ANA e diferentes combinações de GA₃ + AIB. A) e B) Plântulas da cultivar Amarela de Senador Amaral. C) e D) Plântulas da cultivar BRS Catarina 64. E) e F) Plântulas da cultivar BRS Rubia 41. Barra = 1 cm. UTFPR, Pato Branco, 2022.



Fonte: CANDIDO, D. F., 2022.

Lopes (2009), em meio suplementado com 0,1 mg L⁻¹ de ANA e 0,2 mg L⁻¹ de BAP, observou após 20 dias da introdução *in vitro* a formação de raízes em alguns explantes de mandiquinha-salsa e, a partir dos 30 dias o início da tuberização. No entanto, de acordo com o autor, as plantas com maior tuberização apresentam menor desenvolvimento de parte aérea. Neste experimento, no entanto, assim como no experimento 3.3.2, não foi possível enraizar e aclimatizar as plantas de mandiquinha-salsa obtidas *in vitro* devido à mortalidade das plantas, observada aos 14 dias. Destaca-se que, apesar das bandejas serem mantidas em casa de vegetação com temperatura regulada, as temperaturas oscilaram muito e, ainda, observou-se elevada contaminação das plantas após o transplante.

3.4 Conclusões sobre o assunto 1

Em todos os genótipos houve abundante regeneração *in vitro*. O fotoperíodo não exerce efeito sobre o desenvolvimento *in vitro* de cultivares de mandioquinha-salsa.

A resposta *in vitro* foi distinta de acordo com a cultivar. Os genótipos que melhor responderam à proliferação de brotos foram BRS Catarina 64 e BRS Rubia 41.

O número de brotos e o número de folhas são maiores em meio de cultura com GA₃, isento de AIB, e o comprimento dos brotos é maior na combinação de GA₃ + AIB, independente da cultivar.

Tanto em meio com GA₃ ou GA₃ + AIB a cultivar BRS Catarina 64 apresentou maior comprimento de broto e número de folhas.

A formação de calos é dependente do genótipo e dos reguladores de crescimento adicionados ao meio, e deve ser melhor avaliada para aprimorar o protocolo de multiplicação da espécie.

Novas estratégias para o enraizamento e aclimatização de mandioquinha-salsa devem ser estudadas.

4 ASSUNTO 2 – ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA EM GENÓTIPOS DE MANDIOQUINHA-SALSA

4.1 Introdução ao assunto 2

A mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) é uma raiz tuberosa, nativa dos Andes e cuja domesticação ocorreu séculos atrás, possivelmente antes da batata (MORILLO et al., 2020). A raiz tuberosa é a parte mais importante da mandioquinha-salsa por ser a porção comercial e comestível da planta (ROJAS e BARRETO, 2016), constituindo-se em um alimento nutritivo e de fácil digestão (JIMÉNEZ, 2005; PACHECO et al., 2020).

Knudsen et al. (2004) indicam que, embora tenha sido levada repetidamente para outras regiões, a mandioquinha-salsa não se estabeleceu como uma cultura comercial, com exceção do Brasil, onde o plantio é maior do que em qualquer país andino. No Brasil, as cultivares de mandioquinha-salsa diferenciam-se fenotipicamente pela cor das folhas, cor do pecíolo, forma e cor das raízes tuberosas. No entanto, pouco se conhece a respeito da variabilidade genética existente entre essas cultivares.

O conhecimento sobre a variabilidade genética de uma espécie gera importantes informações para subsidiar diferentes práticas de manejo, estabelecimento e manejo de bancos de germoplasma e etapas iniciais de seleção e melhoramento genético (FALEIRO, 2007). Por estas razões, estudos que permitam aos pesquisadores reconhecer e diferenciar materiais genéticos de mandioquinha-salsa são essenciais.

Neste sentido, a estimativa da diversidade genética de cultivares por meio de marcadores moleculares, que não sofrem influência do ambiente, consiste em um dos melhores indicadores da variabilidade genética existente em um banco de germoplasma. Em mandioquinha-salsa, alguns estudos de diversidade genética têm sido realizados com marcadores AFLP (BLAS et al., 2008; BIONDI et al., 2009; LOPES, 2009), microssatélites/SSRs (PARRA FUENTES, 2015; MORILLO et al., 2017; GARNICA-MONTAÑA, 2019) e RAPD (CASTILLO, 1997).

De acordo com Agarwal et al. (2008), microssatélites são marcadores

caracterizados pela repetição de sequências curtas de um a cinco nucleotídeos pelo genoma. São altamente polimórficos em função do número de vezes que se repetem em tandem e ocorrem em grande número por todo o genoma, diferindo entre si pelo motivo da repetição que possuem. Por estes motivos, são úteis para estudos de mapeamento genético, programas de seleção assistida, analisar a diversidade genética e as relações filogenéticas entre as espécies, executar estudos evolutivos e avaliar paternidade (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998; IJAZ, 2011).

Rafalski et al. (1996) citam que dentre os marcadores baseados em PCR, os SSR são os que mais se aproximam do marcador ideal, tendo uma ampla aplicabilidade em estudos de parentesco, fluxo gênico e estrutura genética de populações naturais, por apresentarem um padrão de herança mendeliana aliado as elevadas taxas de polimorfismo, capazes de gerar um alto conteúdo informativo. No Brasil, no entanto, não há relato do uso de marcadores SSRs para estudos de diversidade genética em mandioquinha-salsa.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética em diferentes genótipos de mandioquinha-salsa, pertencentes ao Banco de Germoplasma da UTFPR, Campus Pato Branco.

4.2 Procedimentos metodológicos do assunto 2

Neste experimento, os procedimentos de extração, integridade e quantificação de DNA foram conduzidos no laboratório de Biologia Molecular do Departamento Acadêmico de Ciências Agrárias da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Pato Branco. As demais etapas foram conduzidas no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC, Campus Xanxerê.

4.2.1 Obtenção do material vegetal

Neste trabalho foram utilizados 11 genótipos de mandioquinha-salsa pertencentes ao banco de germoplasma da UTFPR, Campus Pato Branco. Este

grupo foi composto por cinco cultivares registradas (Amarela de Senador Amaral (ASA), BRS Acarijô 56, BRS Catarina 64, BRS Rubia 41 e SCS381 Coqueiral), três genótipos conhecidos e não registrados (Amarela Comum, Branca Comum e Gigante de Angelina) e três clones (BGH 6311, BGH 6313, BGH 7609) oriundos do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa.

O material vegetal consistiu em folhas jovens coletadas em envelopes de alumínio previamente identificados, de cada um dos 11 genótipos, e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido para evitar a degradação do DNA, e posterior armazenamento em ultrafreezer à -80 °C até a extração do DNA.

4.2.2 Escolha dos iniciadores

Foram empregados no estudo os 10 iniciadores (*primers*), descritos na Tabela 9, selecionados como os mais polimórficos dentre os 14 iniciadores sintetizados para o genoma de mandioquinha-salsa do trabalho apresentado por Morillo et al. (2004).

Tabela 9 – Iniciadores SSR utilizados para análise da similaridade genética em genótipos de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft). UTFPR, Pato Branco, 2022.

Iniciadores	SSR ID	Sequência	Tm
1	ACx27_F	AAGTTCGTATTGTGCTGCTGTAT	53
	ACx27_R	ATTGTGGCGTGGATGTGAAAAG	54
2	ACx38_F	TAAAGCCTATAAACATCAAAA	43
	ACx38_R	ACCCTCTCCCATCATAAC	47
3	AxC64_F	GAAATGATCTGCAACTGGAT	48
	AxC64_R	TCCCATCCTTCTTACATAT	43
4	AxC85_F	TGCACGCATTGTAGAACT	49
	AxC85_R	CAAATGGACGTGGTATGT	47
5	AxC87_F	CTCGCAGATCATCTCATAAAGT	50
	AxC87_R	TTAACCTGCAAAGGAGCAC	50
6	AxD34_F	AAGCTACGGATATTTACTACAT	46
	AxD34_R	AGCGGGTCTGATTTGAG	48
7	AxD43_F	AATGGTGGTGTAGGTTTGAAG	50
	AxD43_R	AATTGTTATCTGAGTGCGTTGGTA	53
8	AxD55_F	AACCCGACTGAAATCCCAAAT	53
	AxD55_R	GCAAAAAGACCGCACAATCAA	53
9	AxD72_F	GATACCAATAGGCGAAAGGAG	50
	AxD72_R	AGGGGTGGAGTAGCAATGTT	53
10	AxD82_F	TGGAGAGGCTAATGCAAAATACT	52
	AxD82_R	ATAAGCAGAACGCAAACGACAT	54

Tm: temperatura de *melting* do *primer* em graus Celsius.

Fonte: MORILLO et al. (2004).

As sequências selecionadas foram sintetizadas artificialmente. Após

aquisição dos oligonucleotídeos, os iniciadores passaram por processo de eluição conforme indicação do fabricante (100 μM) e posterior diluição para formação de uma solução de trabalho a 20 μM em Tris-EDTA, pH 8,0 do DNA.

4.2.3 Extração, integridade e quantificação de DNA

As amostras do material vegetal congelado foram maceradas individualmente em nitrogênio líquido e a extração do DNA genômico procedeu-se seguindo o método do CTAB descrito por Doyle e Doyle (1990), com modificações. Após a extração, o precipitado de DNA foi ressuspensão em tampão Tris-EDTA, pH 8,0 e verificada sua qualidade/integridade em gel de agarose 0,8% (p/v) corado com GelRed (Biotium). O gel foi visualizado em transluminador sob luz ultravioleta e foto documentado por sistema de captura digital.

A concentração do DNA foi determinada por meio do espectrofotômetro por leitura de absorvância e da relação 260/280 nm. Com base nos resultados de quantificação, as amostras foram diluídas em Tris-EDTA, pH 8,0 para que a concentração final de DNA da solução de trabalho estivesse padronizada à 50 $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$ para ser utilizada na reação em cadeia da DNA polimerase (PCR).

4.2.4 Amplificação de DNA por PCR

A amplificação do DNA utilizando os iniciadores SSR foi realizada com volume final de reação de 20 μL , constituído de: 10 μL do kit comercial GoTaq Green® Master Mix (Promega), 5 μL de água ultrapura autoclavada, 1,5 μL de cada um dos *primers* (*forward* e *reverse*) e 2 μL de DNA.

A reação de amplificação foi realizada em termociclador de acordo com as seguintes condições de amplificação: etapa inicial de 5 minutos a 95°C, seguida de 35 ciclos de 1 minuto a 95°C, 1 minuto à temperatura de anelamento de acordo com o *primer* utilizado (5°C abaixo da T_m) e 90 segundos a 72°C. Por fim, uma etapa de 5 minutos a 72°C.

4.2.5 Eletroforese

Os produtos de amplificação foram analisados por eletroforese (60 V) em gel de agarose 2% (p/v), usando 2 μ L do corante fluorescente UniSafe Dye® (Uniscience). Para determinar o tamanho dos fragmentos amplificados foi utilizado o marcador de peso molecular de 100 pb (Norgen Biotek Corp®).

O resultado da eletroforese foi visualizado em transiluminador sob luz ultravioleta e foto documentado por sistema de captura digital. A partir desta análise, os iniciadores SSR foram classificados independentemente conforme presença (1) e ausência (0) de bandas nos genótipos, gerando uma matriz de dados binários.

4.2.6 Análise de dados

Com base nas bandas geradas de cada iniciador foi construída uma matriz binária e para a análise de similaridade genética, com base na matriz de similaridade, utilizou-se o coeficiente de Dice (DICE, 1945). O dendrograma foi construído pelo método de agrupamento UPGMA.

Para a verificação do ajuste entre a matriz de similaridade e o dendrograma, foi calculado o coeficiente de correlação cofenética (r) pelo teste de Mantel com 1000 permutas (MANTEL, 1967). A similaridade entre os genótipos foi analisada utilizando o software NTSYS-PC (ROHLF, 2007).

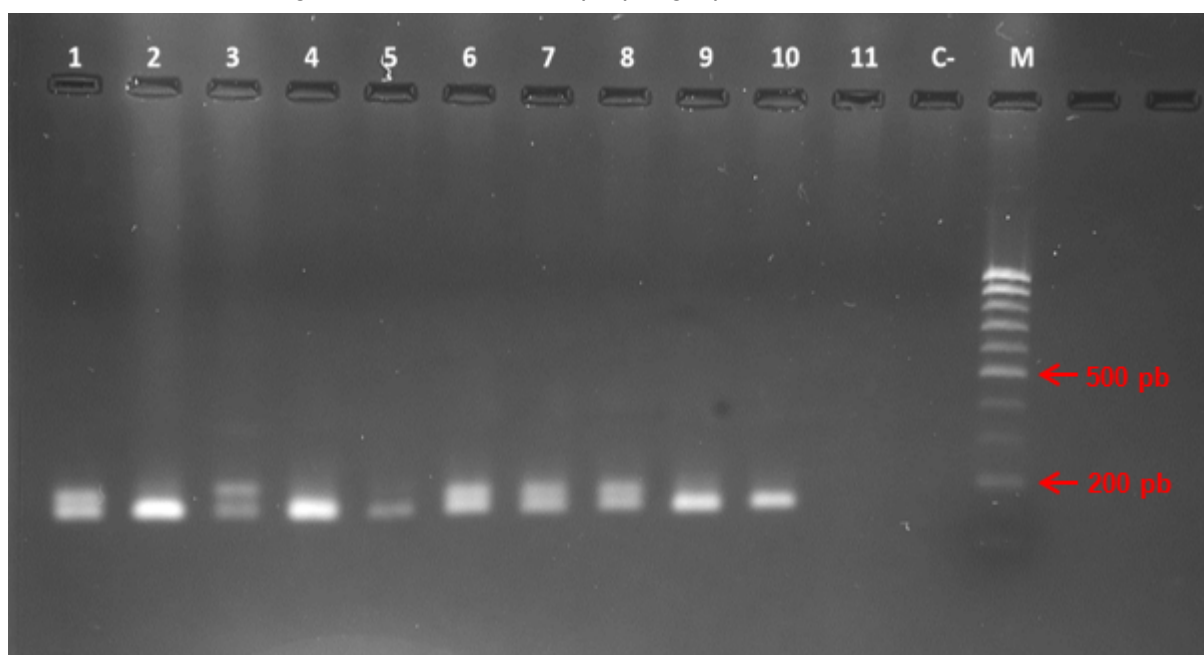
4.3 Resultados e discussões do assunto 2

A partir dos fragmentos polimórficos amplificados por meio de iniciadores SSR (Figura 5), foi realizado o estudo de similaridade genética entre os 11 genótipos de mandioquinha-salsa. O agrupamento representado na Figura 6 organizou os genótipos em quatro grupos heteróticos em nível molecular, que podem ser usados para orientar cruzamentos entre grupos, considerando as características de interesse desejáveis pela agroindústria.

A similaridade média entre todos os genótipos foi de 0,76 e a

correlação cofenética, utilizada para verificar o grau de confiabilidade entre a matriz de similaridade genética e os resultados de agrupamento apresentados no dendrograma foi de 0,95, indicando um bom ajuste de matrizes.

Figura 5 – Gel de agarose 2% demonstrando os produtos da amplificação da PCR com o iniciador AxD82. Ordem das amostras: **1.** BGH 7609; **2.** BGH 6311; **3.** SCS381 Coqueiral; **4.** BGH 6313; **5.** BRS Acarijó 56; **6.** Amarela de Senador Amaral; **7.** Gigante de Angelina; **8.** Amarela Comum; **9.** BRS Catarina 64; **10.** BRS Rubia 41; **11.** Branca Comum; **C-** Controle negativo; **M.** Marcador 100pb (Norgen). UTFPR, Pato Branco, 2022.



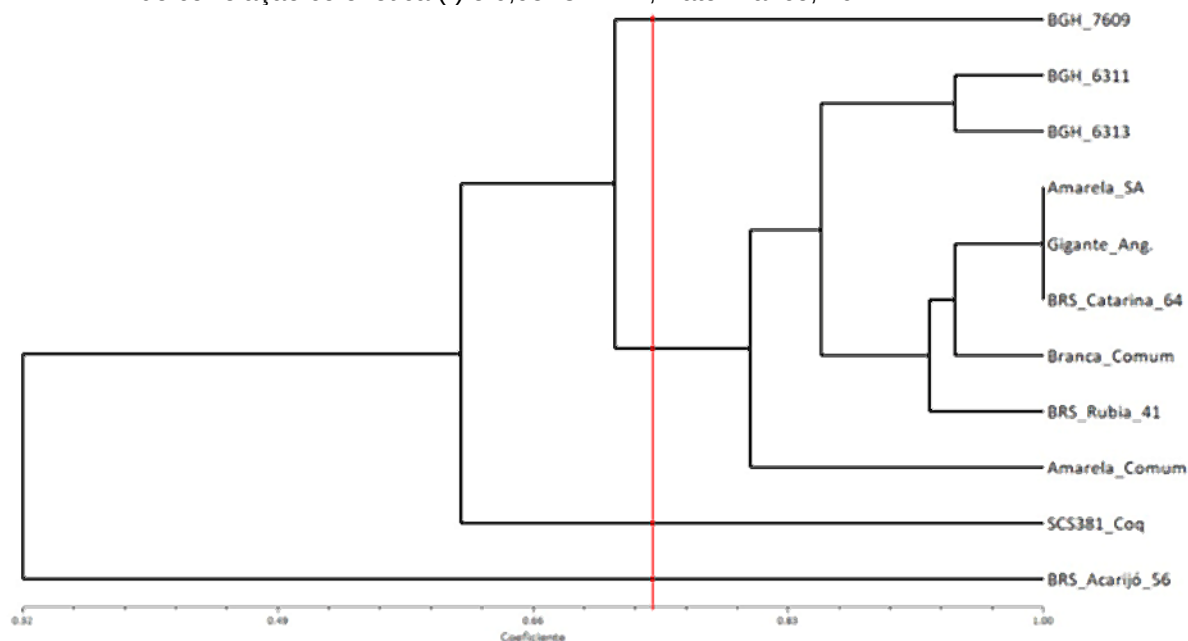
Fonte: CANDIDO, D. F., 2022.

De acordo com o dendrograma (Figura 6), no grupo I ficou alocado apenas o genótipo BRS Acarijó 56, considerado o mais divergente em relação aos demais grupos. Este genótipo apresentou menor similaridade (0,20) com BGH 7609, BGH 6311 e Branca Comum. Por sua vez, a maior similaridade (0,44) do genótipo BRS Acarijó 56 foi observada com o genótipo Amarela Comum.

O grupo II é formado pelo genótipo SCS381 Coqueiral, que apresentou menor similaridade (0,33) com o genótipo BRS Acarijó 56 e maior similaridade (0,73) com o genótipo Amarela Comum.

Com relação ao grupo III, este é composto por oito genótipos separados em três subgrupos. No subgrupo I encontra-se o genótipo Amarela Comum, que apresenta similaridade média de 0,81 com os demais genótipos do grupo.

Figura 6 – Dendrograma de similaridade genética resultante da análise de 11 genótipos de mandioca-salsa, com base em 10 SSRs, utilizando o índice de similaridade de Dice (1945) e o método de agrupamento UPGMA. A similaridade média é 0,76 e o coeficiente de correlação cofenética (r) é 0,95. UTFPR, Pato Branco, 2022.



Legenda: BGH_7609 = BGH 7609; BGH_6311 = BGH 6311; BGH_6313 = BGH 6313; Amarela_SA = Amarela de Senador Amaral; Gigante_Ang = Gigante de Angelina; BRS_Catarina_64 = BRS Catarina 64; Branca_Comum = Branca Comum; BRS_Rubia_41 = BRS Rubia 41; Amarela_Comum = Amarela Comum; SCS381_Coq = SCS381 Coqueiral e BRS_Acarijô_56 = BRS Acarijô 56.

Fonte: CANDIDO, D. F., 2022.

Ainda com relação ao grupo III, o subgrupo II é composto pelos genótipos Amarela de Senador Amaral, Gigante de Angelina, BRS Catarina 64, Branca Comum e BRS Rubia 41, que apresentaram similaridade média de 0,97. Observa-se que no subgrupo II, o dendrograma mostrou a formação de um grupo com três genótipos (Amarela de Senador Amaral, Gigante de Angelina e BRS Catarina 64), que apresentaram similaridade média de 0,94 com os genótipos Branca Comum e BRS Rubia 41. No que diz respeito ao subgrupo III, ficaram alocados os genótipos BGH 6311 e BGH 6313, que apresentam similaridade média de 0,94.

O genótipo BGH 7609, pertencente ao grupo IV, apresentou menor similaridade (0,20) com BRS Acarijô 56 e maior similaridade (0,88) com BGH 6311. Salienta-se que as cultivares BRS Catarina 64 e BRS Rubia 41 foram obtidas por meio da seleção de clones, oriundos de sementes botânicas coletadas em um campo de policruzamento, no município de Canoinhas – SC. De maneira semelhante, o genótipo Gigante de Angelina surgiu naturalmente em campos de Santa Catarina (EMBRAPA, 2020).

A similaridade genética apresentada pelos genótipos do grupo III corroboram uma possível regionalização da variabilidade genética em mandioquinha-salsa. Nesse sentido, estes resultados demonstram a importância da coleta de acessos de diferentes regiões para o aumento da variabilidade genética de coleções de trabalho e bancos de germoplasma da espécie.

Ressalta-se que a mandioquinha-salsa é uma hortaliça propagada assexuadamente, o que explica em parte a baixa variabilidade genética apresentada entre os genótipos do grupo III, considerando que muitos clones são originados de seleções fenotípicas de plantas provenientes da mesma área de cultivo. Destaca-se também, que a mandioquinha-salsa é uma espécie poliploide, com genoma grande, e que o número de marcadores usados nesta pesquisa foi pequeno.

Em estudo com marcadores AFPL em cultivares de mandioquinha-salsa, Lopes (2009) também observou uniformidade clonal dentro das cultivares. De acordo com o estudo, não foi possível distinguir as cultivares por não apresentarem diferenças considerando as combinações de *primers* utilizadas.

Apesar da similaridade genética entre os genótipos que pertencem ao grupo III, é interessante mantê-los no banco de germoplasma, considerando que tais genótipos podem apresentar características morfológicas, como textura da casca, cor, formato e tamanho da raiz, que os diferenciem, tornando-os mais aceitos em determinados mercados consumidores. Ainda, destaca-se a possibilidade de realizar pesquisas de adaptabilidade e estabilidade dos genótipos a diferentes ambientes, uma vez que se reconhece a existência de significativa interação genótipo-ambiente nos locais onde a mandioquinha-salsa é cultivada, enfatizando-se que o aumento de luminosidade, teores de fósforo mais altos e maior disponibilidade de água concorrem para a redução do ciclo da cultura e maior produtividade (FRANÇA, 2000).

É importante enfatizar que a cultivar BRS Acarijó 56 é única variedade de mandioquinha-salsa desenvolvida com finalidade industrial, haja vista a crescente demanda por material de mandioquinha-salsa para processamento na forma de fritas fatiadas (“chips” ou “palha”), desidratada, pré-cozida, em sopas e cremes. Portanto, esta cultivar apresenta características que a difere dos demais materiais existentes, como maior porcentagem de matéria seca, sabor intenso e maior teor de

sólidos solúveis, aspecto que lhe confere melhor qualidade culinária (EMBRAPA, 2020). Nesse sentido, a baixa similaridade deste genótipo em relação aos demais pode ser resultado das características exploradas no material para a agroindústria.

De acordo com Melchinger et al. (1994), na escolha de genitores em programas de melhoramento genético, selecionam-se plantas de interesse e realiza-se a hibridação, esperando que ocorra segregação nas progênes. Geralmente, a escolha fundamenta-se na dissimilaridade genética entre os genitores, uma vez que quanto maior a dissimilaridade, maior será a segregação, e, portanto, maior a possibilidade de resultar em genótipos superiores.

Nesse sentido, o dendrograma enfatiza que o genótipo BRS Acarijó 56 apresenta-se como um genitor potencial para cruzamento com BGH 7609, BGH 6311, Branca Comum e SCS381 Coqueiral, quando o objetivo é ampliar a variabilidade genética, já que estes apresentaram a maior distância genética, aumentando assim a possibilidade de resultar em progênes com características desejáveis.

A caracterização molecular de mandioquinha-salsa, com o objetivo de identificar a variabilidade das coleções de germoplasma em acessos colombianos, também foi realizada por Parra Fuentes (2018). A autora utilizou 14 SSRs, visando identificar bandas polimórficas e reproduzíveis em sete cultivares de mandioquinha-salsa, identificadas fenotipicamente por agricultores. A pesquisa identificou fragmentos polimórficos reproduzíveis em 9 SSRs, confirmando seu uso para análise da variabilidade genética das cultivares estudadas, sendo que a distância genética média encontrada foi 0,63.

Morillo, Knudsen e Sécond (2017) utilizaram 11 SSRs para estudar as relações genéticas entre a mandioquinha-salsa cultivada, formas silvestres do Equador e Peru (policárpicas silvestres e monocárpicas silvestres) e híbridos F1 presumidos obtidos de cruzamentos experimentais. Os autores pesquisaram a diversidade de 178 amostras de mandioquinha-salsa e, como resultado, observaram variância genética de 75% dentro dos grupos e 25% entre grupos, sendo que as formas selvagens mostraram diversidade alélica significativamente maior para todos os marcadores SSRs examinados.

Diversos autores, como Hermann (1997), defendem a necessidade de

caracterizar a diversidade genética de coleções de mandiocinha-salsa para a avaliação da erosão genética e o estabelecimento de estratégias de manejo e conservação desses recursos genéticos. Nosso estudo fornece novas informações sobre esses tópicos, revelando e identificando a diversidade genética existente entre genótipos de mandiocinha-salsa.

4.4 Conclusões sobre o assunto 2

A análise da diversidade genética dos genótipos avaliados resultou na formação de quatro grupos. Dos 11 genótipos estudados, oito pertencem ao mesmo grupo, enfatizando a baixa variabilidade genética existente entre os genótipos de mandiocinha-salsa.

A similaridade média obtida a partir dos fragmentos polimórficos amplificados através de 10 iniciadores SSR foi de 0,76. Indicando que a variabilidade molecular entre todos os genótipos é de apenas 24%.

O genótipo que apresenta menor similaridade genética com os demais é a cultivar BRS Acarijó 56.

5 ASSUNTO 3 – ANÁLISE BIBLIOMÉTRICA DE MANDIOQUINHA-SALSA

5.1 Introdução ao assunto 3

A mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) é conhecida por sua capacidade de gerar raízes tuberosas de armazenamento que são colhidas e comercializadas em países como Brasil, Bolívia, Colômbia, Equador, Peru e Venezuela (GARNICA MONTAÑA et al., 2021). A raízes da mandioquinha-salsa adicionam textura e sabor aos pratos, fornecem nutricionalmente calorias, fibras e minerais como cálcio, fósforo, magnésio e ferro e apresentam potencial para a agroindústria (IDARRAGA et al., 2011).

Na Bolívia e Peru, a raiz da mandioquinha-salsa é um alimento utilizado em comunidades isoladas, com pouca presença nos mercados. Na Colômbia, seu cultivo não é considerado prioridade nos planos nacionais ou departamentais de desenvolvimento agrícola. No Brasil, entretanto, é um ingrediente presente na alta gastronomia (ALVARADO e OCHOA, 2010; MORILLO et al., 2020).

Apesar de sua reconhecida importância, não só econômica e nutricional, mas também para a agricultura familiar, a mandioquinha-salsa possui poucos estudos quando comparada às espécies de relevância similar. Nesse sentido, ainda há um vasto campo de pesquisa a ser explorado com vistas a investigar seu potencial.

Uma modalidade de pesquisa que se destaca no campo da avaliação da produção científica e das tendências de pesquisa é o estudo bibliométrico. A pesquisa bibliométrica consiste na aplicação de métodos quantitativos sobre o desenvolvimento da ciência como processo de informação, a fim de mensurar a produção científica sobre determinado tema, utilizando ferramentas de análise de dados que permitem *insights* indicativos de tendências de pesquisa, tais como: áreas de pesquisa, autores, países, impacto das publicações, instituições de pesquisa, agentes financiadores, entre outros, e as correlações entre cada variável (VAN ECK e WALTMAN, 2010).

Assim, a pesquisa bibliométrica possibilita verificar tendências ao longo do tempo, bem como os temas específicos que foram pesquisados, e identificar

mudanças nos limites das disciplinas, dos pesquisadores e instituições mais prolíficas no campo, e demonstrar a perspectiva geral de uma determinada área de pesquisa (KAFER et al., 2021).

Com base no exposto, o objetivo deste estudo foi investigar, com o auxílio da análise bibliométrica, o estado da arte da produção científica de mandioquinha-salsa, identificando as tendências de pesquisa envolvendo a espécie e visando estimular novas pesquisas com esta cultura.

5.2 Procedimentos metodológicos do assunto 3

As publicações foram obtidas da base de dados *Web of Science* (WoS) - Coleção Principal (*Clarivate Analytics*). O acesso à base foi realizado via Comunidade Acadêmica Federada (CAFe), junto ao Portal de Periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

A pesquisa foi realizada em 2022, a partir de pesquisa na base, utilizando-se os termos “*Arracacia xanthorrhiza*”, “arracacha”, “peruvian carrot” e “mandioquinha-salsa”. Entre os documentos que retornaram, foram selecionados os artigos que tratavam especificamente do tema relacionado à pesquisa, excluindo-se assim, aqueles que não faziam referência aos termos utilizados na busca e as duplicatas.

Para evitar as duplicatas, que ocorrem quando uma mesma publicação é encontrada na busca por dois ou mais termos diferentes, induzindo o programa a contabilizar esta publicação mais de uma vez, a tabela que continha os dados de todas as publicações foi verificada visualmente, removendo-se as duplicatas com base na coluna em que se encontravam os títulos dos trabalhos.

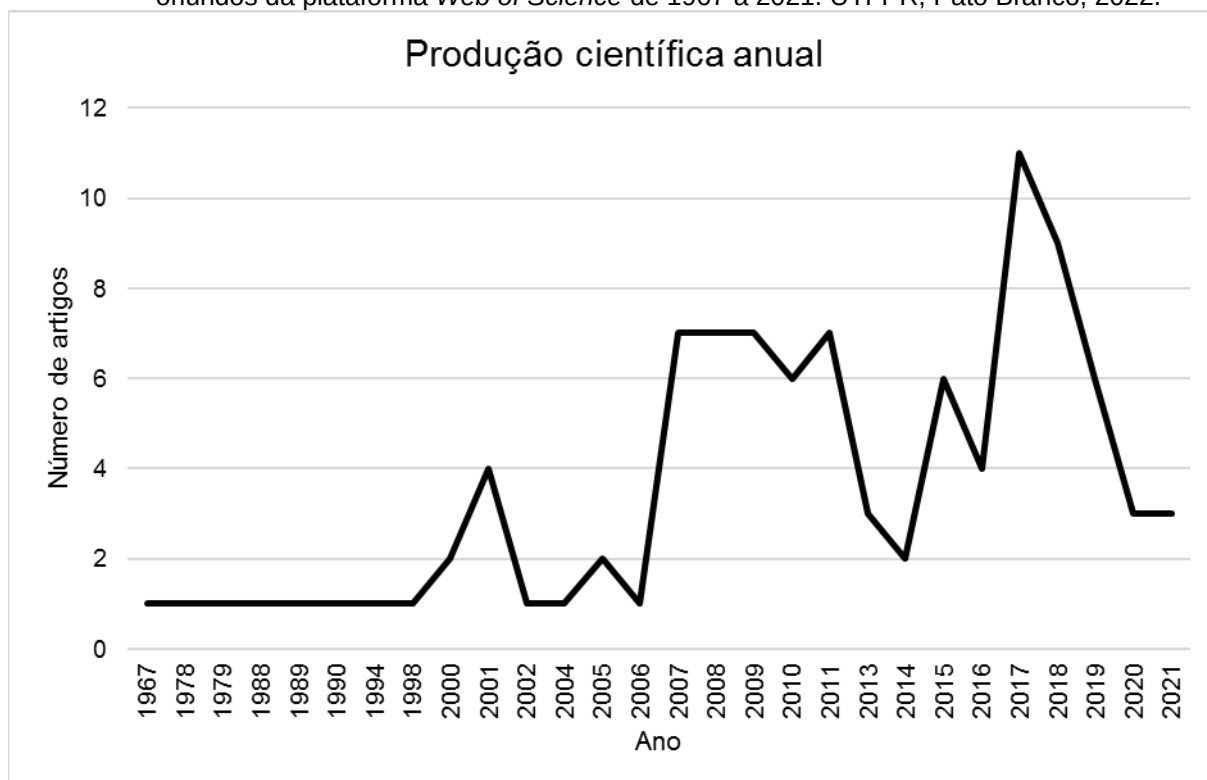
O intervalo de tempo utilizado foi entre os anos 1967 e 2021, considerando a data de publicação do primeiro e do último documento. A partir da seleção de artigos, foi gerado um arquivo de texto contendo todos os dados e informações obtidos da plataforma *Web of Science*. O arquivo de texto foi submetido ao pacote bibliometrix (ARIA; CUCCURULLO, 2017) do software Rstudio, utilizando-se da extensão *biblioshiny*, que retornou os resultados e foi utilizada para gerar figuras como evolução da produção científica, nuvem de palavras, rede de

colaboração entre instituições e redes de proximidade. Os gráficos de barras foram elaborados utilizando-se o programa Microsoft Excel (2019).

5.3 Resultados e discussões do assunto 3

Com os termos utilizados na busca houve um retorno de 160 documentos publicados, em uma escala de tempo de 1967 a 2021 que, depois de refinados e excluindo-se as duplicatas, somaram um total de 100 artigos. Na Figura 7, encontra-se a produção científica anual do período abrangido pelas buscas.

Figura 7 – Produção científica anual sobre o tema mandioquinha-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022.



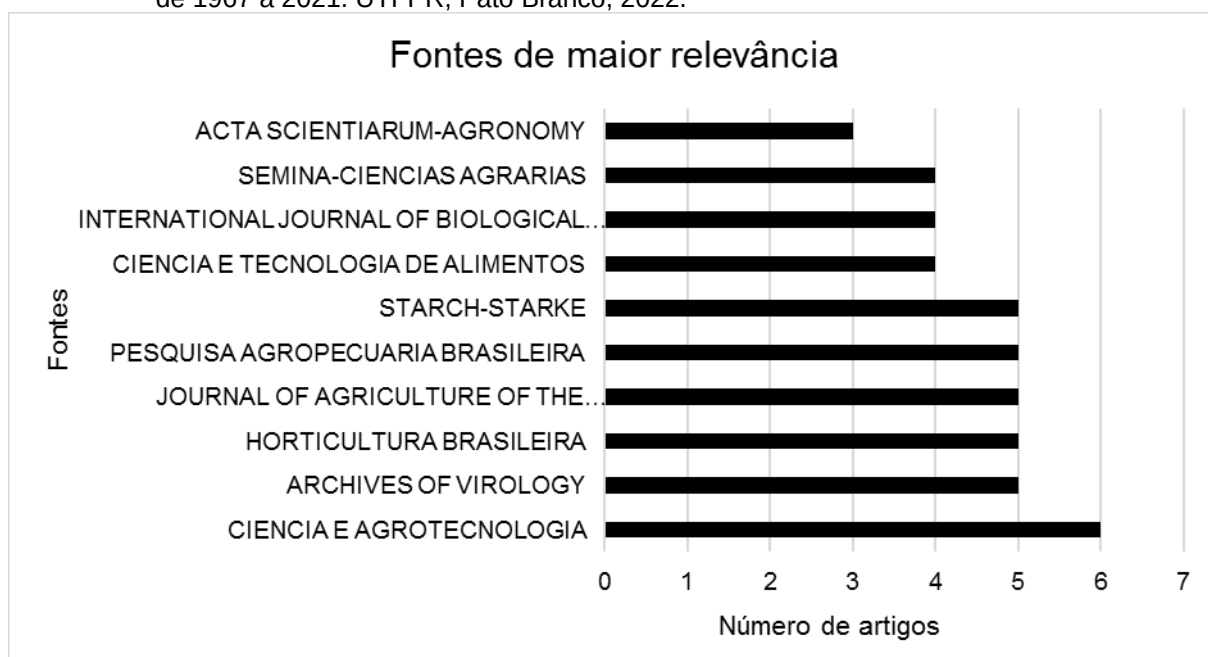
Fonte: Adaptado de Biblioshiny for bibliometrix (2022).

No ano de 1967 houve a publicação de apenas um artigo, em que o autor estuda o efeito da radiação gama sobre a vida de prateleira de mandioquinha-salsa. Em 1988 e 1994 foram publicadas as primeiras pesquisas de autoria brasileira, os estudos foram desenvolvidos com podridão causada por *Erwinia carotovora* e indução e histogênese de calos em pecíolos de mandioquinha-salsa, respectivamente.

O ano com o maior número de publicações, dentro do período de realização da pesquisa foi 2017, em que foram publicados 11 trabalhos. No ano de 2021, último ano da pesquisa, foram publicados somente 3 trabalhos, em temas como detecção de novos vírus, efeitos da densidade populacional em plantios e caracterização e potencial de farinhas andinas, o que demonstra um decréscimo da produção que seguia em valores semelhantes no período de 2017 a 2019.

A Figura 8 apresenta as 10 fontes mais relevantes, 6 entre os 10 são periódicos brasileiros, o que indica a importância do país na pesquisa com a cultura, dentre a mais relevante se destaca o periódico *Ciência e Agrotecnologia*, da Universidade Federal de Lavras, com 6 trabalhos publicados.

Figura 8 – Fontes de maior relevância com base no número de artigos publicados referentes ao tema mandioca-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022.



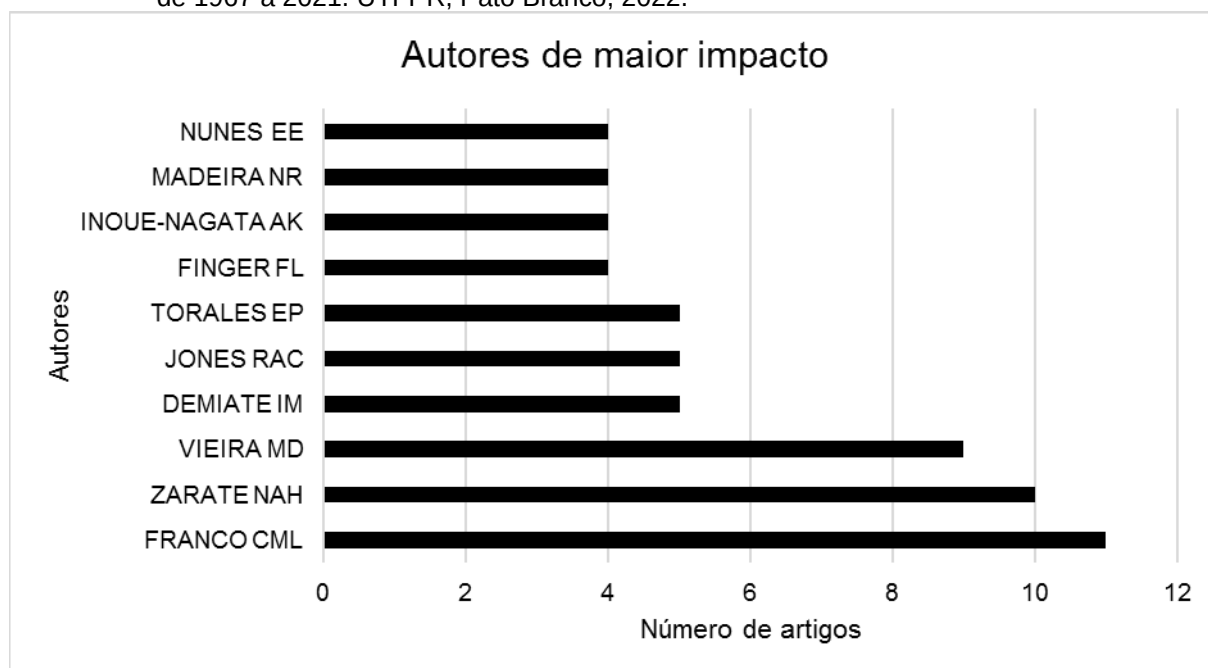
Fonte: Adaptado de Biblioshiny for bibliometrix (2022).

Outra análise interessante são os autores considerados mais relevantes, com base no número de artigos publicados, sendo que, quanto maior o número de artigos maior o impacto. Conforme Figura 9, tem-se FRANCO C.M.L. (Universidade Estadual Paulista) com 11 publicações, seguido de ZARATE N.A.H. (Universidade Federal da Grande Dourados) com 10 e VIEIRA M.D. (Universidade Federal da Grande Dourados) com 9 publicações, destacando o papel das instituições públicas de ensino na pesquisa com a espécie.

A brasileira Célia Maria Landi Franco (FRANCO C.M.L.), que foi a autora com o maior número de documentos publicados, desenvolveu seu primeiro trabalho com mandioquinha-salsa em 2007 e trabalha com pesquisas de caracterização físico-química e estrutural de amidos de diferentes fontes botânicas. Néstor Antonio Heredia Zárate (ZARATE N.A.H.), segundo autor mais publicado, pesquisa produção, propagação e adubação de hortaliças, composição nutricional e propagação de mudas de espécies arbóreas, produção de biomassa e, ainda, potencial alelopático de plantas medicinais.

Por sua vez, a terceira autora com maior número de publicações, Maria do Carmo Vieira (VIEIRA M.D.), também brasileira, publicou seu primeiro trabalho com mandioquinha-salsa em 2007 e mantém pesquisas direcionadas principalmente ao cultivo de diferentes plantas medicinais. Observa-se que os 3 autores com maior número de artigos publicados, referentes às pesquisas com mandioquinha-salsa, são pesquisadores de instituições brasileiras. Ainda com relação à Figura 9, enfatiza-se outros autores brasileiros de maior impacto como DEMIATE I.M. (Ivo Mottin Demiate), FINGER F.L. (Fernando Luiz Finger), MADEIRA N.M. (Nuno Rodrigo Madeira) e NUNES E.E. (Elisângela Elena Nunes).

Figura 9 – Autores de maior impacto com base no número de artigos publicados referentes ao tema mandioquinha-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022.

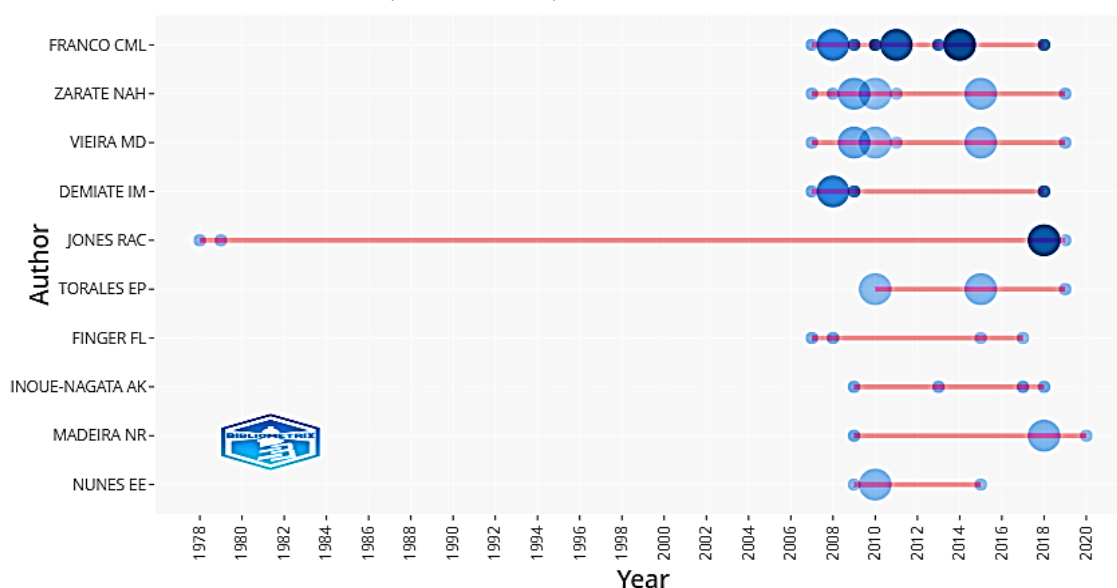


Fonte: Adaptado de Biblioshiny for bibliometrix (2022).

A análise bibliométrica permite também obter informações referentes à evolução da produção científica dos autores mais relevantes por ano, conforme se observa na Figura 10, em que a cor mais escura indica um maior número de citações do autor por ano e o tamanho do círculo indica o número de artigos publicados. Nesta análise destaca-se FRANCO C.M.L., que publicou pela primeira vez em 2007 e manteve o maior número de publicações e citações ao longo do período, com ênfase nos anos de 2008, 2011 e 2014.

Da mesma maneira, na Figura 10, observam-se outros autores de instituições brasileiras que apresentam relevante evolução da produção científica como ZÁRATE N.A.H. (Néstor Antonio Heredia Zárate), VIEIRA M.D. (Maria do Carmo Vieira), DEMIATE I.M. (Ivo Mottin Demiate), FINGER F. L. (Fernando Luiz Finger), MADEIRA N. M. (Nuno Rodrigo Madeira) e NUNES E. E. (Elisângela Elena Nunes).

Figura 10 – Evolução da produção científica dos autores mais relevantes por ano, referente ao tema mandioquinha-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022.



Fonte: Biblioshiny for bibliometrix (2022)

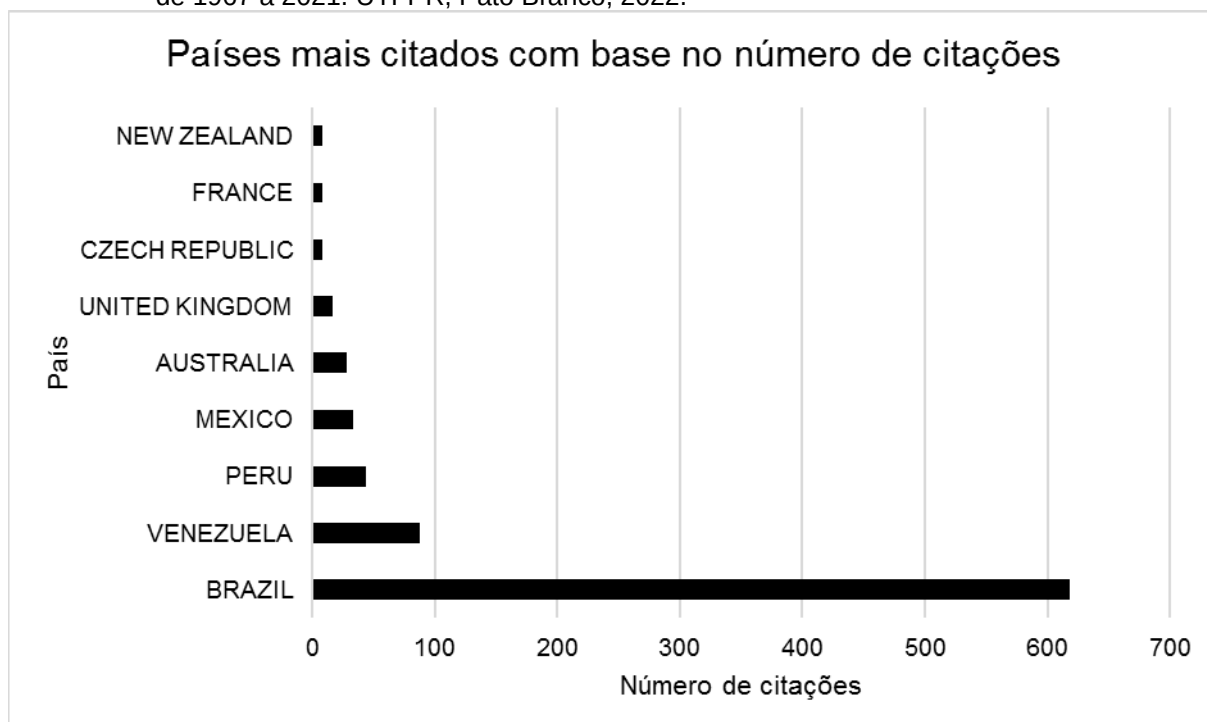
Vale ressaltar, com relação à Figura 10, JONES R.A.C. (Roger A. C. Jones) professor e pesquisador de virologia de plantas, que em 2018, último ano em que houve o maior número de publicações dentro do período de realização da pesquisa, obteve o maior número citações por ano. Este autor, que teve seus trabalhos com mandioquinha-salsa publicados em 1978, 1979, 2018 e 2019, realiza

pesquisas com diversas outras culturas, como batata-inglesa (*Solanum tuberosum*), tabaco (*Nicotiana tabacum*) e tomate (*Solanum lycopersicum*).

Ao mesmo tempo em que é possível analisar os autores que mais publicam sobre mandioquinha-salsa, pode-se, também, identificar em que países estão localizadas as instituições dos artigos com maior número de citações em nível global.

Na Figura 11, observam-se os 10 países onde estão localizadas as instituições dos artigos com maior número de citações em nível global. Nesse contexto, o Brasil é o país com maior relevância, com 618 citações que se destaca nesse cenário por apresentar os autores com maior número de publicações. Além do Brasil, Venezuela e Peru, centro de origem da mandioquinha-salsa, estão entre os países com maior número de citações, 88 e 44 citações, respectivamente.

Figura 11 – Países onde estão localizadas as instituições dos artigos mais citados referentes ao tema mandioquinha-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022.



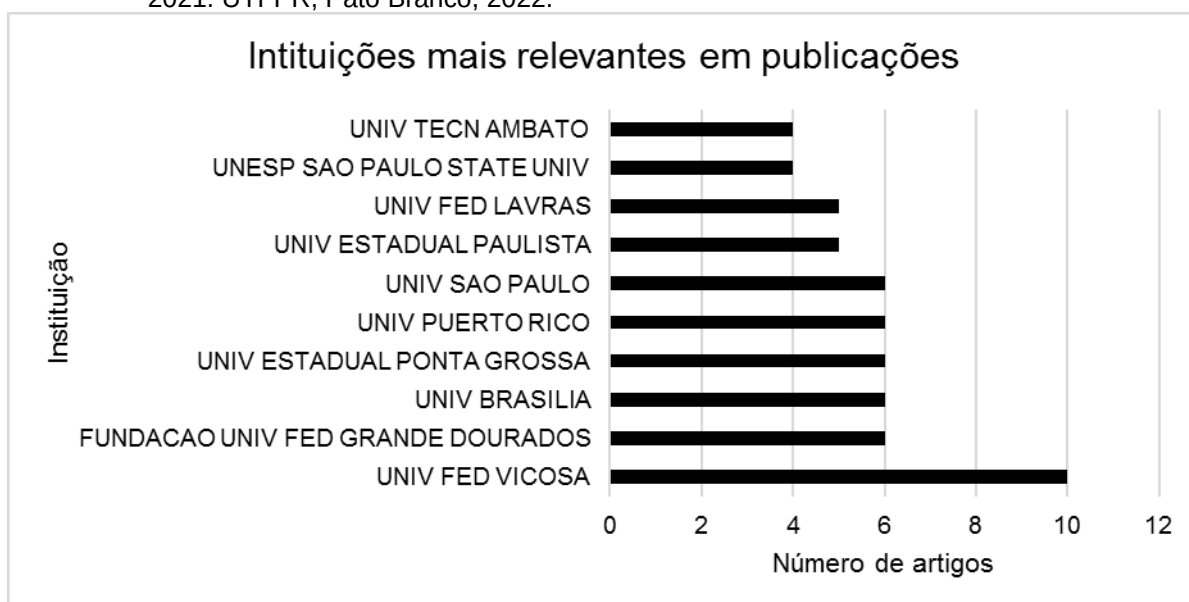
Fonte: Adaptado de Biblioshiny for bibliometrix (2022).

Na Figura 12, é possível verificar o panorama do número de publicações que há nesse tema por instituição, pois quando um artigo é publicado, o autor deve colocar sua afiliação. Contudo, a instituição só é relacionada a publicação quando o autor correspondente pela publicação é afiliado desta. Nesse sentido, a

instituição que tem maior número de afiliados como autores correspondentes, em artigos relacionados à mandioquinha-salsa, é a Universidade Federal de Viçosa (UFV) com 10 publicações.

A UFV (Figura 12) tem como afiliado Fernando Luiz Finger um dos 10 autores mais relevantes quanto ao número de publicações (Figura 9). Em seguida, tem-se a Universidade Federal da Grande Dourados com 6 publicações, que tem como afiliados Néstor A. Heredia Zárate e Maria do Carmo Vieira, dois dos autores mais relevantes quanto ao número de publicações (Figura 9).

Figura 12 – Instituições com maior relevância com base no número total de publicações por afiliados como autores correspondentes referentes ao tema referentes ao tema mandioquinha-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022.



Fonte: Adaptado de Biblioshiny for bibliometrix (2022).

Outro aspecto importante a se analisar no que se refere às instituições é a rede de colaboração, sendo considerada pelos autores de correspondência das instituições, pois tende a contribuir para o fortalecimento dos estudos realizados e construção do conhecimento. De acordo com as informações da Figura 13, é possível inferir que há pouca colaboração entre as instituições de diferentes países e as instituições dentro do mesmo país.

No Brasil, por exemplo, há quatro instituições que já publicaram sobre a espécie, no entanto, só há duas colaborações registradas, entre a Universidade Estadual Paulista e a Universidade Estadual de Ponta Grossa e entre a Universidade Estadual de Maringá e a Fundação Universidade da Grande Dourados,

conforme Figura 13.

Figura 13 – Rede de colaboração entre as instituições referentes ao tema mandioquinha-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022.

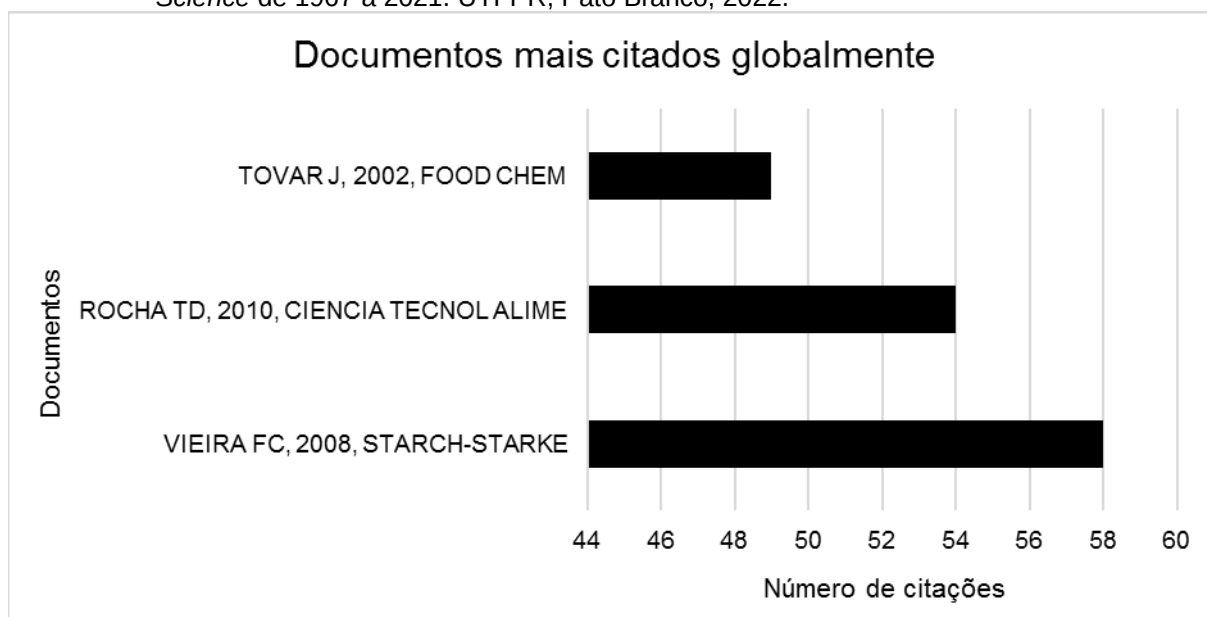


Fonte: Biblioshiny for bibliometrix (2022)

Com relação aos três artigos mais citados globalmente (Figura 14), o artigo com maior número de citações (citado 58 vezes) trata-se de uma pesquisa publicada no periódico *Starch-Stärke*, no ano de 2008. O documento é intitulado “*Heat-moisture treatment and enzymatic digestibility of peruvian carrot, sweet potato and ginger starches*” e estudou os efeitos do tratamento com calor e umidade e da digestão enzimática nas propriedades (cristalinidade, suscetibilidade enzimática e perfil de viscosidade) do amido de mandioquinha-salsa e outras culturas. A publicação conclui que o tratamento com calor e umidade modifica as propriedades do amido de mandioquinha-salsa, tornando-o mais acessível à ação de alfa-amilase e glucoamilase, e conseqüentemente, à degradação. Esta publicação é de autoria das pesquisadoras brasileiras VIEIRA F.C. (Fabiana do Carmo Vieira) e SARMENTO S.B.S. (Silene Bruder Silveira Sarmento).

O segundo artigo com maior número de citações foi citado 54 vezes, e trata-se de um estudo publicado no periódico *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, no ano de 2010 por ROCHA T. D. O documento intitulado “*Effect of enzymatic hydrolysis on some physicochemical properties of root and tuber granular starches*” demonstra o efeito da hidrólise enzimática sobre propriedades físico-químicas do amido de mandioquinha-salsa e outros tubérculos.

Figura 14 – Documentos mais citados globalmente com base no número de citações relacionados ao tema mandioca-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022.



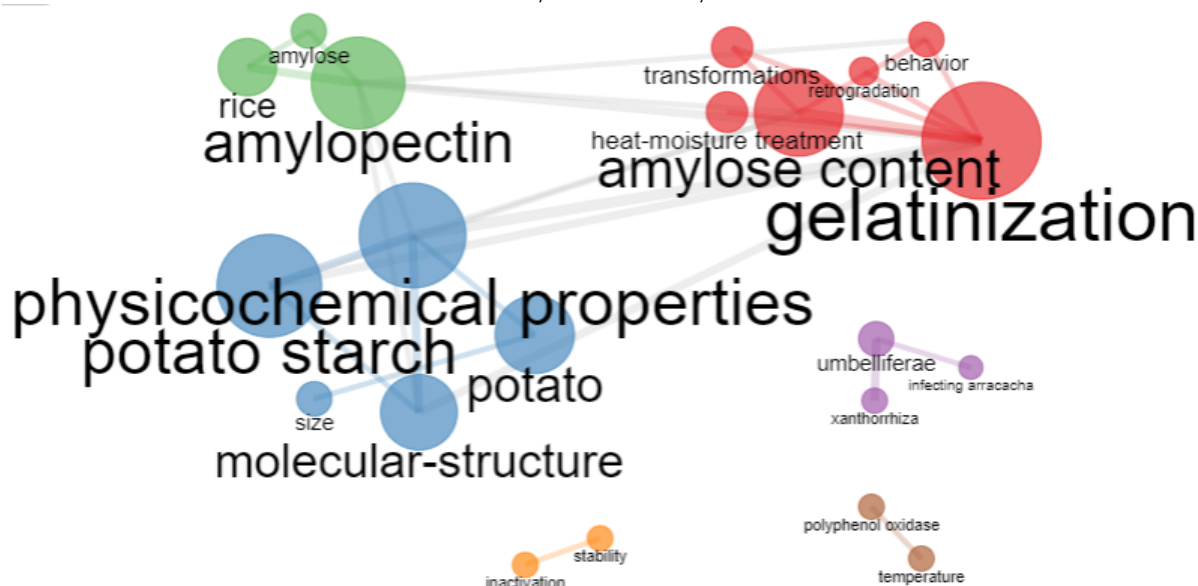
Fonte: Adaptado de Biblioshiny for bibliometrix (2022).

Por sua vez, o terceiro artigo com maior número de citações, citado 49 vezes, foi publicado no periódico *Food Chemistry*, no ano de 2002 por TOVAR, J. O documento intitulado “*Environmental factors affecting N-2 fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil*” compara o processo de degradação do amido resistente obtido a partir da mandioca-salsa com o amido produzido a partir de milho (*Zea mays*), arroz (*Oryza sativa*), lentilha (*Lens culinaris*) e feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* cv. Yaracuy). O autor destaca que os géis de amido de feijão-de-porco apresentam os maiores índices de deterioração, seguidos pelos preparados de cereais, mandioca-salsa e lentilha.

De modo geral, observa-se que os três artigos mais citados mundialmente tiveram como tema de estudo propriedades químico-físicas do amido obtido a partir de mandioca-salsa e, conseqüentemente, o potencial de emprego desta hortaliça na alimentação.

Com vistas a entender como a comunidade científica tem trabalhado com a mandioca-salsa, elencou-se as redes de proximidade entre as palavras mais citadas nas palavras-chave, conforme Figura 15, onde as cores semelhantes destacam a proximidade entre termos. Assim, pode-se inferir a proximidade entre as palavras destacadas em vermelho “*gelatinization*”, “*amylose content*”, “*heat-moisture treatment*”, “*transformations*”, “*behavior*” e “*retrogradation*”.

Figura 15 – Redes de proximidade das palavras mais citadas nas palavras-chave relacionadas ao tema mandioquinha-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022.



Fonte: Biblioshiny for bibliometrix (2022)

De modo geral, os estudos relacionados às palavras citadas na Figura 15, tiveram como objetivo analisar a composição química, teor de amilose e propriedades do amido de mandioquinha-salsa, usando tratamentos com temperatura e umidade. Em alguns trabalhos, os resultados foram comparados aos obtidos em outras culturas como a mandioca (*Manihot esculenta*). Estudos com essa temática foram realizados em países como Brasil, Estados Unidos da América e México.

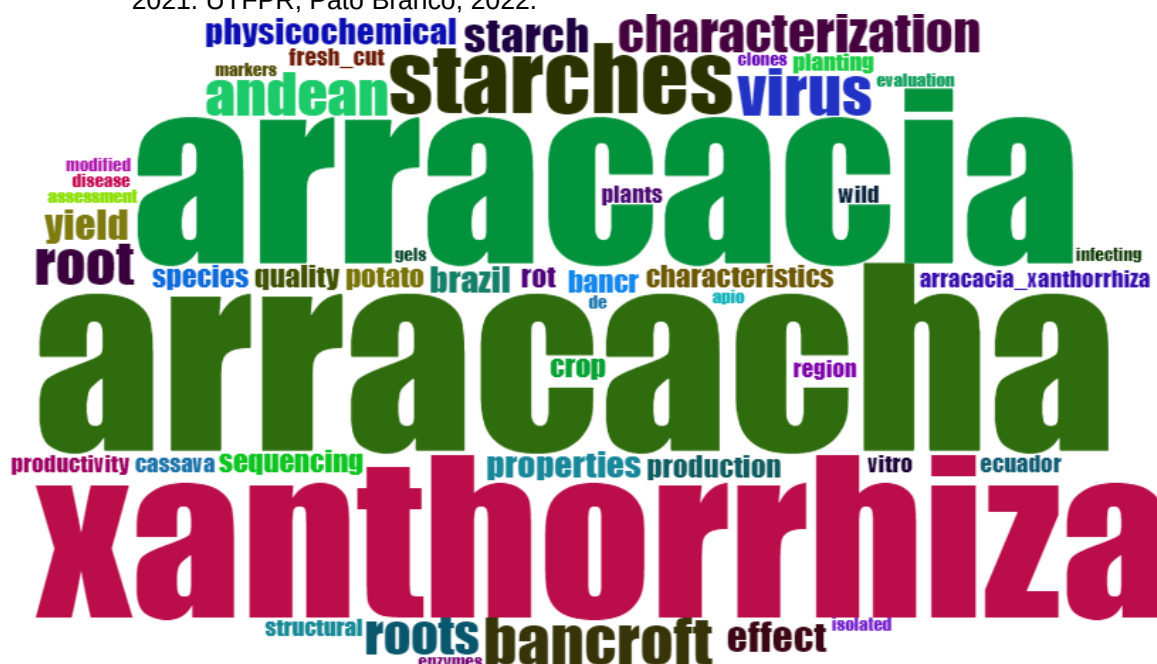
Também é possível verificar o interesse das pesquisas em assuntos relacionados às palavras “*physicochemical properties*”, “*potato starch*”, “*potato*”, “*molecular-structure*” e “*size*”, destacadas em azul. Entre os objetivos de alguns estudos, avaliou-se as propriedades físico-químicas do amido de mandioquinha-salsa, a fim de verificar a viabilidade da aplicação deste amido não convencional como alternativa ao amido modificado de milho.

Ainda, houve proximidade entre as palavras “*rice*”, “*amylose*” e “*amylopectin*”, destacadas em verde. As pesquisas relacionadas a estas palavras eram díspares, em alguns casos, comparou-se a tendência à deterioração do amido obtido a partir de mandioquinha-salsa com o amido produzido a partir de outras culturas, como o arroz. Em outra pesquisa, avaliou-se a produtividade de mandioquinha-salsa em solo coberto com resíduo à base de casca de arroz.

No que diz respeito às palavras mais utilizadas nos títulos dos artigos, foi gerada uma nuvem de palavras contendo as 50 palavras mais citadas nos títulos, como pode ser visualizado na Figura 16. Na nuvem de palavras destacam-se os 10 termos “*arracacha*”, “*arracacia*”, “*xanthorrhiza*”, “*peruvian*”, “*carrot*”, “*starches*”, “*bancroft*”, “*virus*”, “*andean*” e “*root*”, pois quanto maior o tamanho da fonte que está escrita a palavra, mais citada ela foi, visto que a variação no tamanho da palavra ocorre de acordo com o número de citações.

Nota-se, na Figura 16, que com exceção da palavra vírus, as demais palavras que se destacam estão relacionadas a termos utilizados para se referir especificamente à mandioquinha-salsa, como nome científico, nome comum, andina, cenoura peruana e raiz. Além do termo amido, que já se observou no presente trabalho, ser amplamente pesquisado pela comunidade científica.

Figura 16 – Nuvem com as 50 palavras mais citadas nos títulos relacionadas ao tema mandioquinha-salsa e derivados do termo, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022.



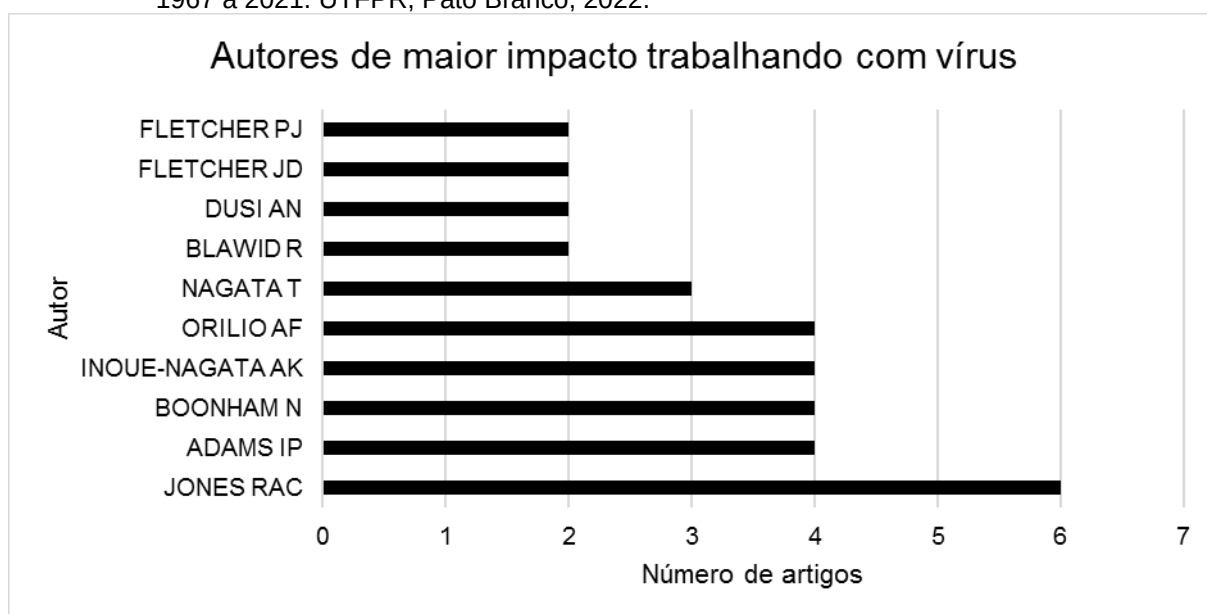
Fonte: Biblioshiny for bibliometrix (2022)

As viroses são um assunto de grande interesse no que se refere à mandioquinha-salsa. Este fato se explica pois o cultivo desta hortaliça geralmente é feito por pequenos produtores, que usam seu próprio material propagativo, pois não há material certificado livre de vírus disponível para compra. Este sistema potencialmente promove o acúmulo gradual de vírus e um aumento na proporção de

plantas infectadas (OLIVEIRA et al., 2017).

Na Figura 17, verifica-se que o autor com maior número de publicações com a palavra vírus, JONES R.A.C., é um dos 10 autores mais relevantes quanto ao número de publicações a respeito da mandioquinha-salsa (Figura 9). Adicionalmente, a pesquisadora brasileira Anelise Franco Orílio (ORILIO, F.A.) também se encontra entre os autores de maior impacto com a palavra vírus.

Figura 17 – Autores de maior impacto com base no número de artigos publicados referentes a palavra vírus em mandioquinha-salsa, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022.

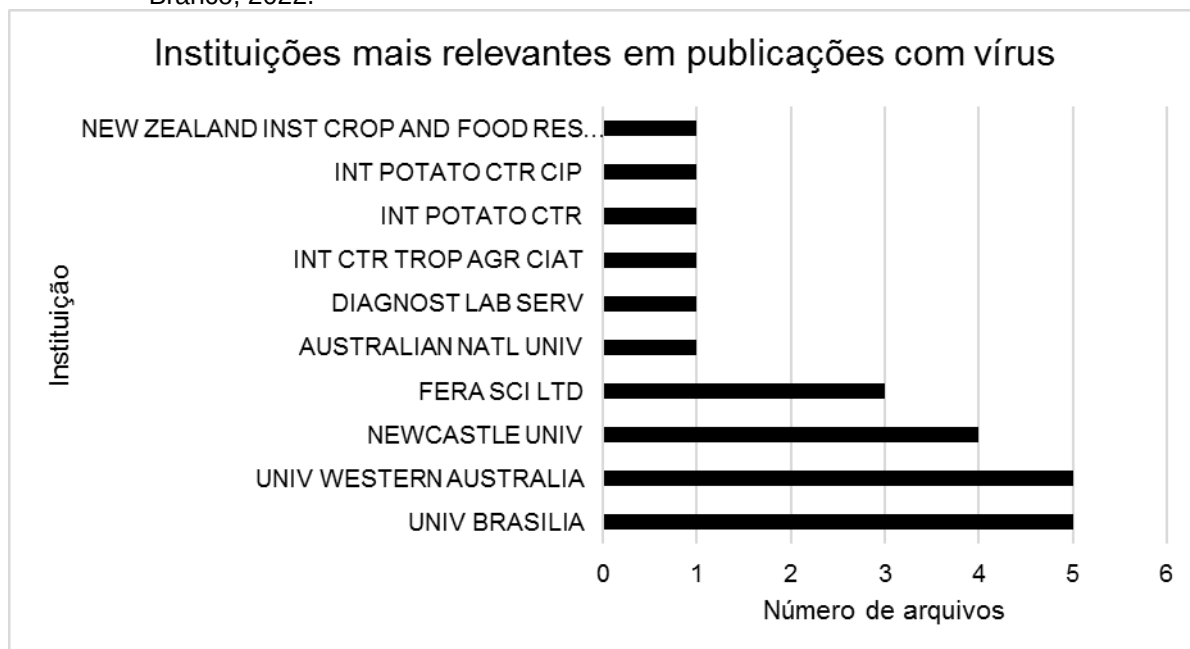


Fonte: Adaptado de Biblioshiny for bibliometrix (2022).

Ainda, é possível observar que entre as instituições que publicaram o maior número de artigos sobre vírus encontra-se uma universidade brasileira, a Universidade de Brasília (Figura 18).

A Universidade de Brasília, assim como a University of Western Australia são as duas instituições mais relevantes em publicações quando se trata de viroses em mandioquinha-salsa. Além disso, a Universidade de Brasília encontra-se entre as 10 instituições mais relevantes em publicações no mundo, conforme observado anteriormente na Figura 12. Vale salientar que o pesquisador JONES R.A.C. faz parte do corpo docente da University of Western Australia.

Figura 18 – Instituições com maior relevância com base no número total de publicações por afiliados como autores correspondentes referentes a pesquisas com vírus em mandioquinha-salsa, dados oriundos da plataforma *Web of Science* de 1967 a 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022.



Fonte: Adaptado de Biblioshiny for bibliometrix (2022).

A análise bibliométrica permitiu o mapeamento das informações do conhecimento científico produzido e a sintetização dos resultados existentes no que concerne à mandioquinha-salsa. Logo, possibilitou uma visão ampla da produção acadêmica através dos resultados encontrados. Observou-se que os estudos com a cultura são restritos há poucas temáticas e que pesquisas com o melhoramento genético e a propagação vegetativa *in vitro*, visando a obtenção de plantas de qualidade superior, bem como o uso de marcadores moleculares para caracterização da diversidade genética da espécie, são escassos.

5.4 Conclusões sobre o assunto 3

A mandioquinha-salsa ainda é uma cultura pouco explorada pela comunidade científica. A média de publicações por ano é 3,57 artigos, número expressivamente baixo quando comparado às pesquisas com outras hortaliças tuberosas de importância similar.

O amido de mandioquinha-salsa e suas propriedades químico-físicas é

a temática mais abordada nas pesquisas científicas.

O Brasil é o país de maior destaque em pesquisas com mandioquinha-salsa, tanto em relação às instituições de pesquisa e autores que mais publicam, quanto ao número de publicações e ao país mais relevante.

A colaboração entre as instituições que pesquisam mandioquinha-salsa nos diferentes países e dentro do mesmo país é escassa, demonstrando a baixa interação entre os principais pesquisadores da cultura.

6 CONCLUSÕES

A propagação vegetativa *in vitro* de mandioquinha-salsa apresenta potencial, no entanto, novos estudos são necessários visando aprimorar esta técnica, especialmente no que se refere ao enraizamento e à aclimatização das plantas e à resposta das cultivares ao desenvolvimento *in vitro*.

A análise da diversidade genética enfatizou baixa variabilidade genética existente entre os genótipos de mandioquinha-salsa.

O genótipo que apresenta menor similaridade genética com os demais é a cultivar BRS Acarijó 56.

Os estudos com esta espécie são restritos a poucas áreas, sendo que o amido e suas propriedades químico-físicas é a temática mais abordada nas pesquisas científicas.

O Brasil distingue-se como o país com maior número de pesquisas em mandioquinha-salsa. No entanto, a cultura ainda é pouco explorada pela comunidade científica.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espécie em estudo apresenta potencial para o cultivo *in vitro*. No entanto, a cultivar BRS Catarina 64 foi a que melhor se desenvolveu em termos gerais. Ainda há necessidade de estudos com vistas a aprimorar os protocolos para redução da formação de calos. Também, às dificuldades que concernem ao enraizamento e à aclimatização devem ser melhores exploradas.

Os resultados obtidos neste estudo possibilitaram agrupar os genótipos de acordo com a variabilidade existente, permitindo aos programas de melhoramento identificação dos genitores mais promissores para seleção e utilização em cruzamentos. No entanto, recomenda-se que, em futuros trabalhos, sejam utilizados um maior número de marcadores SSR, haja vista que apenas quatro grupos foram formados com 10 iniciadores.

Os resultados da pesquisa também contribuíram para compreender a diversidade genética existente em mandioquinha-salsa. Portanto, colaboraram para a caracterização do banco de germoplasma da UTFPR, Campus Pato Branco, podendo, assim, auxiliar no melhoramento genético desta hortaliça.

As análises das publicações indexadas na WoS, utilizando ferramentas de mapeamento bibliométrico, sugerem que há um vasto campo de pesquisa praticável com mandioquinha-salsa. Em comparação com outras hortaliças tuberosas de importância comercial e alimentar, existem muitas vulnerabilidades a serem investigadas no que diz respeito à mandioquinha-salsa.

Métodos moleculares mais informativos podem ser utilizados para caracterizar o germoplasma de mandioquinha-salsa, contribuindo para identificação de genes importantes para o melhoramento da cultura, uma vez que a espécie é vulnerável a altas temperaturas, estresse hídrico e estresses bióticos, como pulgões e nematoides. Ainda, existem gargalos a que devem ser explorados, como a conservação pós-colheita desta raiz tuberosa que apresenta diversos problemas, principalmente com relação à sua alta perecibilidade e rápida deterioração.

Novos estudos envolvendo pesquisas com mandioquinha-salsa são importantes, tanto para subsidiar seu cultivo pelos agricultores quanto para descobrir novas possibilidades de uso da espécie.

REFERÊNCIAS

- AASIM, M.; KHAWAR, K. M.; ÖZCAN, S. *In vitro* micropropagation from shoot meristems of Turkish cowpea (*Vigna unguiculata* L.) cv. Akkiz. **Bangladesh Journal of Botany**, v. 37, n. 2, p. 149-154, 2008.
- ACQUADRO, A.; MAGURNO, F.; PORTIS, E.; LANTERI, S. dbEST-derived microsatellite markers in celery (*Apium graveolens* L. var. dulce). **Mol Ecology Notes**, v. 6, n.4, p. 1080-1082, 2006.
- AGARWAL, M.; SHRIVASTAVA, N.; PADH, H. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. **Plant Cell Reports**, v. 27, n. 4, p. 617-631, 2008.
- ALVARADO, A. A.; OCHOA, L. Tecnologías locales de producción de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) en el municipio de Boyaca, departamento de Boyaca. **Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica**, v. 13, n. 1, 125-133, 2010.
- ARAGÃO, V. P. M.; RIBEIRO, Y. R. S.; REIS, R. S.; MACEDO, A. F.; FLOH, E. I. S.; SILVEIRA, V.; SANTA-CATARINA, C. *In vitro* organogenesis of *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae): the involvement of endogenous polyamines and carbohydrates on shoot development. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 124, n. 3, p. 611-620, 2016.
- ARAÚJO, C. A. A. Bibliometria: evolução histórica e questões atuais. **Em questão**, v. 12, n. 1, p. 11-32, 2006.
- ARIA, M.; CUCCURULLO, C. bibliometrix: An r-tool for comprehensive science mapping analysis. **Journal of Informetrics**, v. 11, n. 4, p. 959-975, 2017.
- BAJAÑA, D. F. 1994. 116 f. **Efectos de factores ambientales sobre la floración de zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft)**. Tesis (Licenciado Ciencias Biológicas) - Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Ciencias Biológicas, Quito, Ecuador, 1994.
- BARANSKI, R.; MAKSYLEWICZ-KAUL, A.; NOTHNAGEL, T.; CAVAGNARO, P. F.; SIMON, P.; W. GRZEBELUS, D. Genetic diversity of carrot (*Daucus carota* L.) cultivars revealed by analysis of SSR loci. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 59, n. 2, p. 163-170, 2012.
- BIESDORF, E. M.; BIESDORF, E. M.; ARAÚJO, E. M.; COSTA, E. J. O.; OLIVEIRA, O. J. Produção de mandiocinha salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) submetida a quatro épocas de plantio. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, n. 1, p. 43-48, 2017.
- BIONDI, J.; ZORRILLA, C.; MANRIQUE, I.; ARBIZU, C.; ROCA, W.; MEDINA, T.; ... BLAS, R. Genetic diversity of arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) in Peru. In: **Tropical roots and tubers in a changing climate: A convenient opportunity for the world**. XV Triennial Symposium of the International Society for Tropical Root Crops.

p. 60-66, 2009.

BLAS, R.; GHISLAIN, M.; DEL ROSARIO HERRERA, M.; BAUDOIN, J. P. Genetic diversity analysis of wild *Arracacia* species according to morphological and molecular markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 55, n. 5, p. 625-642, 2008.

BONSI, C. K.; MORTLEY, D. G.; LORETAN, P. A.; HILL, W. A. Temperature and light effects of sweet potatoes grown hydroponically. **Acta Horticulturae**, Belgium, v. 361, n. 1, p. 527-529, 1994.

BOTIN, A. A.; CARVALHO, A. Reguladores de crescimento na produção de mudas florestais. **Revista de Ciências Agroambientais**, v. 13, n. 1, p. 83-96, 2015.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v. 32, n. 3, p. 314-331, 1980.

BURTON, W. G. **The Potato**: a survey of its history and of factors, influencing its yield nutritive value, quality and storage. Wageningen: Veenman & Zonen, 1966, 382 p.

CARMO, E. L. **Potencialidades da mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) para processamento industrial**. 2011. 115 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Faculdade de Ciências Agronômicas/UNESP, Botucatu, 2011.

CARMO, E. L.; LEONEL, M. Composição físico-química e cor de clones de mandioquinha-salsa. **Energ. Agric.**, Botucatu, v. 27, n. 1, p.62-81, 2012.

CARVALHO, A. D. F.; MADEIRA, N. R.; SILVA, G. O. Adaptability and stability of commercial yield of arracacha in southern region of Minas Gerais State. **Horticultura Brasileira**, v. 36, p. 100-105, 2018.

CARVALHO, A. C. P. P.; VIEIRA, C. F.; BARBOSA, F. S.; MORAIS, J. P. S. Efeito do número de explantes, meio de cultura e fotoperíodo na micropropagação de abacaxi ornamental *Ananas comosus* var. *ananassoides*. **Ornamental Horticulture**, v. 13, p. 471, 2007.

CARVALHO, S. **Informações sobre mandioquinha-salsa**. Belo Horizonte: Centro de Informação Agropecuária, Assessoria de Mercado e Comercialização; Departamento Técnico Emater, MG, p. 1, 2008.

CASALI, V. W. D. Inhame e mandioquinha-salsa: hortaliças alternativas? **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 2, p. 276-277, 1994.

CASALI, V. W. D.; SEDIYAMA, M. A. N. Origem e botânica da mandioquinha-salsa. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 19, n. 190, p. 13-14, 1997.

CASTANHA, N.; VILLAR, J.; MATTA JUNIOR, M. D.; ANJOS, C. B. P.; AUGUSTO, P. E. D. Structure and properties of starches from Arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) roots. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 117, p. 1029-1038, 2018.

CASTILLO, R. Caracterización molecular de 29 morfotipos de arracacha (*Arracacia*

xanthorrhiza Bancroft) de la colección ecuatoriana. **IX Congreso Internacional de Cultivos Andinos**, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Cusco, Libro de Resúmenes, p. 42, 1997.

CASTILLO, R. **Manejo e conservação de germoplasma de tuberosas andinas**: informe final de consultoria para el Centro Internacional de La Papa (CIP). Quito: CIP, 1991, 7 p.

CAVAGNARO, P. F.; CHUNG, S. M.; MANIN, S.; YILDIZ, M.; ALI, A.; ALESSANDRO, M. S.; ... SIMON, P. W. Microsatellite isolation and marker development in carrot-genomic distribution, linkage mapping, genetic diversity analysis and marker transferability across Apiaceae. **BMC Genomics**, v. 12, n. 1, p. 1-20, 2011.

CHAALI, N.; OUAZAA, S.; JARAMILLO-BARRIOS, C. I.; CARRILLO, G. A. A.; PEDRAZA, E. Á. Edaphoclimatic characterization and crop water requirement of Arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) roots in upland production areas. **Scientia Horticulturae**, v. 272, 2020.

CHEN, C., CHU, Y., DING, C.; SU, X.; HUANG, Q. Genetic diversity and population structure of black cottonwood (*Populus deltoides*) revealed using simple sequence repeat markers. **BMC Genetics**, v. 21, n.2, p.1-12, 2020.

CHO, R. J.; MINDRINOS, M.; RICHARDS, D. R.; SAPOLSKY, R. J.; ANDERSON, M.; DRENKARD, E.; ... OEFNER, P. J. Genome-wide mapping with biallelic markers in *Arabidopsis thaliana*. **Nature Genetics**, New York, v. 23, p. 203-207, 1999.

CHU, E. P.; RIBEIRO, C. L. F. Growth and carbohydrate changes in shoot cultures of *Dioscorea* species as influenced by photoperiod, exogenous sucrose and cytokinin concentrations. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 70, n. 3, p. 241-249, 2002.

CHUEKE, G. V.; AMATUCCI, M. O que é bibliometria? Uma introdução ao fórum. **Internext**, v. 10, n. 2, p. 1-5, 2015.

CRUZ-TIRADO, J. P.; VEJARANO, R.; TAPIA-BLÁCIDO, D. R.; BARRAZA-JÁUREGUI, G.; SICHE, R. Biodegradable foam tray based on starches isolated from different Peruvian species. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 125, p. 800-807, 2019.

DICE, L. R. Measures of the amount of ecological association between species. **Ecology**, Washington, v. 26, n. 3, p. 297-307, 1945.

DOMINGUES, D. S.; FARRO, A. P. C.; COSCRATO, V. E.; MELLO, E. J. D.; ODA, S.; MARINO, C. L. Identificação de marcador RAPD e SCAR relacionados ao caractere florescimento precoce em *Eucalyptus grandis*. **Ciênc. Florest.** [online]. v. 16, n. 3, p. 251-260, 2006.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**. v. 12, n. 1, p. 13-15, 1990.

EL-SHOWK, S.; RUONALA, R.; HELARIUTTA, Y. Crossing paths: cytokinin signalling and crosstalk. **Development**, v. 140, n. 7, p. 1373-1383, 2013.

- EMBRAPA. **EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA**. 2020. Relatório de avaliação dos impactos de tecnologias geradas pela Embrapa. <https://bs.sede.embrapa.br/2019/relatorios/hortalicas_mandioquinha.pdf>. Acesso em: 21 de mar de 2022.
- EVANS, D.E.; COLEMAN, J.O.D.; KEARNS, A. **Plant Cell Culture**. USA. BIOS, p. 153-155, 2003.
- FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília, DF: Embrapa/CENARGEN, 1998. 220 p.
- FETT-NETO, A. G.; FETT, J. P.; GOULART, L. W. V.; PASQUALI, G.; TERMIGNONI, R. R.; FERREIRA, A. G. Distinct effects of auxin and light on adventitious root development in *Eucalyptus saligna* and *Eucalyptus globulus*. **Tree Physiology**, v. 21, n. 7, p. 457-464, 2001.
- FIGUEIREDO, J. R. M.; PAIVA, P. D. O.; PAIVA, R.; FARIA, C.V.N.; THEREZAN, R.F.; REIS, M.V.; SILVA, D.P.C. Temperature, photoperiod and colored shade nets on the *in vitro* development of *Physalis peruviana* L. **Acta Hortic.** v. 1205, p. 757-762, 2018.
- FIORE, M.C.; SUNSERI, F.; CARIMI, F.; SCIORTINO, A. Genetic characterization of Sicilian fennel landraces by SSR molecular markers. In: **Proceedings of the 52 nd Italian Society of Agricultural Genetics Annual Congress**, Padova, Italy, p. 14-17, 2008.
- FLETCHER, P.J.; FLETCHER, J.D. *In vitro* virus elimination in three Andean root crops: Oca (*Oxalis tuberosa*), ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas) and arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*). **New-Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, Auckland, v. 29, n. 1, p. 23-27, 2001.
- FONSECA-TRUJILLO, N.; MÁRQUEZ-CARDONA, M.; MORENO-OSORIO, J.; TERÁN-PÉREZ, W.; SCHULER-GARCÍA, I. Caracterización molecular de materiales cultivados de gulupa (*Passiflora edulis* f. *edulis*). **Universitas Scientiarum**, v. 14, p. 135-140, 2009.
- FORTINI, E. A.; BATISTA, D. S.; DE CASTRO, K. M.; SILVA, T. D.; FELIPE, S. H. S.; CORREIA, L. N. F.; ... OTONI, W. C. Photoperiod modulates growth and pigments and 20-hydroxyecdysone accumulation in Brazilian ginseng [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen] grown *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 142, n. 3, p. 595-611, 2020.
- FRÁGUAS, C. B. **Micropropagação e aspectos da anatomia foliar da figueira Roxo de Valinhos em diferentes ambientes**. 2003. 110 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2003.
- FRANÇA, F. H. A sustentabilidade de produção da cultura da mandioquinha-salsa

numa perspectiva entomológica. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 257-258, 2000. Palestra.

FRANCA, M. B. Pesquisa bibliométrica da produção científica sobre tomada de decisão. **Revista de Ciências Administrativas**, v. 18, n. 2, p. 485-512, 2012.

GAMBORG, O.; MILLER, R.; OJIMA, K. Nutrient requirement suspensions cultures of soybean root cells. **Experimental Cell Research**, v. 50, n. 1, p. 151-158, 1968.

GARNICA MONTAÑA, J. P.; CARVAJAL, J. E. V.; SOLANO, L. M. A.; JARAMILLO-BARRIOS, C. I. Caracterización fenotípica de tres cultivares regionales de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) en Tolima, Colombia. **Ciencia y Agricultura**, v. 18, n. 1, p. 1-20, 2021.

GARNICA MONTAÑA, J. P. **Variabilidad morfológica y molecular de genotipos de Arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr.) del Banco de Germoplasma de Corpoica**. 2019. 35 f. Tesis (Magister en Ciencias Agrarias) - Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2019.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: part 1 - The Technology**, 2 ed. Edington: Exegetics Limited, 1996. 1574 p.

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; DE KLERK, G. (Eds.). **Plant propagation by tissue culture**, 3 ed., v. 1. Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2008, 508 p.

GRANATE, M.; SEDIYAMA, M. A. N.; PINTO, F. S. A.; SINVAL, W. N.; MASCARENHAS, M. H. T.; PADUA, J. G.; PUIATTI, M.; SILVA, D. J. H. **Seleção de clones precoces e produtivos de mandioquinha-salsa para quatro regiões de Minas Gerais**. In: 46º Congresso Brasileiro de Olericultura, 2006, Goiânia. 46º Congresso brasileiro de Olericultura. Brasília, DF: Associação Brasileira de Horticultura. v. 24. p. 1468-1471.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPH, v.1, p.43-76, 1998.

GUTIÉRREZ, A. Nueva aparcería en la producción de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) en Cajamarca (Colombia). Cuad. **Desarro. Rural**, v. 8, n. 67, p. 205-228, 2011.

HAMADA, H.; PETRINO, M. C.; TAKUGANA, T. A novel repeated element with Z-forming potential is widely found in evolutionarily diverse eukaryotic genomes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 79, p. 6465-6469, 1982.

HERINGER, A. S.; REIS, R. S.; PASSAMANI, L. Z.; DE SOUZA-FILHO, G. A.; SANTA-CATARINA, C.; SILVEIRA, V. Comparative proteomics analysis of the effect of combined red and blue lights on sugarcane somatic embryogenesis. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 39, n. 2, p. 1-14, 2017.

HERMANN, M. Arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft). In: HERMANN, M.; HELLER, J. (eds). **Andean roots and tubers: ahupa, arracacha, maca and yacon**. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Institute of

Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, v. 21, 1997.

HERMINIO, D. B. C. **Produção, qualidade e conservação pós-colheita de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) sob adubações mineral, orgânica e biodinâmica.** 2005. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agronômicas/UNESP, Botucatu, 2005.

HERNÁNDEZ, B. G. D. **Diversidade genética e desenvolvimento de protocolo de regeneração *in vitro* em *Jatropha curcas*.** 2014. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2014.

HILDING, A.; WELANDER, T. Effects of some factors on propagation of *Begonia x hiemalis in vitro*. **Swedish Journal of Agricultural Research**, v. 6, p. 191-199, 1976.

HU, C. Y.; WANG, P. J. Meristem, shoot tip and bud culture. In: EVANS, D. A.; SHARP, W. R.; AMMIRATO, P. V.; YAMADA, Y. (Eds.). **Handbook of Plant Cell Culture: techniques for propagation and breeding.** New York: Macmillan, p. 117-227, 1983.

IDOWU, P. E.; IBITOYE, D. O.; ADEMOYEGUN, O. T. Tissue culture as a plant production technique for horticultural crops. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 16, p. 3782-3788, 2009.

IJAZ, S. Microsatellite markers: an important fingerprinting tool for characterization of rop plants. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 40, p. 7723-7726, 2011.

JACKSON, S. D.; JAMES, P.; PRAT, S.; THOMAS, B. Phytochrome B affects the levels of agraft-transmissible signal involved in tuberization. **Plant Physiology**, v. 117, p. 29-32, 1998.

JAIN, R.; SHARMA, M.; KACHHWAHA, S.; KOTHARI, S. L. Identification and characterization of microsatellites in expressed sequence tags and their cross transferability in different plants. **International Journal of Genomics**, v. 2014, p. 1-12, 2014.

JARDIM, L. S.; SAMPAIO, P. D. T. B.; COSTA, S. D. S.; GONÇALVES, C. D. Q. B.; BRANDÃO, H. L. M. Efeito de diferentes reguladores de crescimento na regeneração *in vitro* de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke). **Acta Amazonica**, v. 40, p. 275-279, 2010.

JEFFREYS, A. J.; WILSON, V.; THEIN, S. L. Hypervariable "minisatellite" regions in human DNA. **Nature**, London, v. 314, p. 67-73, 1985.

JIMÉNEZ, F. Características nutricionales de la arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) y sus perspectivas en la alimentación. **Publicación Virtual Red Peruana de Alimentación y Nutrición.** Lima, Perú, 2005, 22p.

KAFER, J. M.; GOBATTO, D. R.; WOYANN, L. G.; CARNEIRO, E.; DA SILVA, G. R.; FINATTO, T. The impact of molecular markers in common bean through a

scientometric approach. **Euphytica**, v. 217, n. 7, p. 1-12, 2021.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, 431p.

KIRTIŞ, A.; AASIM, M. Thidiazuron (TDZ) induced *in vitro* axillary shoot regeneration of desi chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Journal of Applied Biological Sciences**, v. 13, n. 1, p. 17-20, 2019.

KNUDSEN, S.; HERMANN, M.; DOS SANTOS, F.; SORENSEN, M. Inducción de floración en el cultivo de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft). En: **Seminario**, J. (ed.). Raíces Andinas: Contribuciones al conocimiento y a la capacitación. Universidad Nacional de Cajamarca, Centro Internacional de la Papa, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación. Lima, Perú. p. 197-213, 2004.

KNUDSEN, S. R.; ORTING, B.O.; SORENSEN, M. Multiplicación y conservación de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr.) y ajipa (*Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi). In: MORAES, M.; OLLGAARD, B. B.; KVIST, P.; BORCHSENIUS, F.; BALSLEV, H. (ed.). **Botánica Económica de los Andes Centrales**. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia. p.483-508, 2006.

KOCHBA, J.; BUTTON, J.; SPIEGEL-ROY, P.; BORNMAN, C. H.; KOCHABA, M. Stimulation of rooting of citrus embryoids by gibberelic acids and adenini sulphate. **Annals of Botany**, London, v. 38, n. 157, p. 795-802, 1974.

KOZAI, T.; WATANABE, K.; JEONG, B. R. Stem elongation and growth of *Solanum tuberosum* L. *in vitro* in response to photosynthetic photon flux, photoperiod and difference in photoperiod and dark period temperatures. **Scientia Horticulturae**, v. 64, n. 1-2, p. 1-9, 1995.

LEIDI, E. O.; ALTAMIRANO, A. M.; MERCADO, G.; RODRIGUEZ, J. P.; RAMOS, A.; ALANDIA, G.; ... JACOBSEN, S. E. Andean roots and tubers crops as sources of functional foods. **Journal of Functional Foods**, v. 51, p. 86-93, 2018.

LI, M.Y.; WANG, F.; JIANG, Q.; MA, J.; XIONG, A. S. Identification of SSRs and differentially expressed genes in two cultivars of celery (*Apium graveolens* L.) by deep transcriptome sequencing. **Horticulture Research**, v. 1, n. 10, p. 1-9, 2014.

LITT, M.; LUTY, J. A. A. hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a nucleotide repeat within the cardiac muscle action gene. **American Journal of Human Genetics**, v. 44, p.398-401, 1989.

LOPES, F. S. **Morfogênese *in vitro* como auxílio ao melhoramento da mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft)**. 2009. 102 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2009.

LOPES, F. S.; MATTA, F. P.; LIMA, A. B. P.; HOTT, M. O.; STUMM, M. Respostas *in vitro* de três variedades comerciais de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) submetidas a combinações de ANA e BAP. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 2, 2008.

- LUZ, J. M. Q. **Obtenção "in vitro" de plantas de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) via cultura de meristemas**. 1993. 52 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Lavras: ESAL, 1993.
- LUZ, J. M. Q.; PASQUAL, M.; SOUZA, R. J. Cultura de tecidos e biotecnologia em mandioquinha-salsa. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.19, n.190, p.18-21, 1997.
- MACHADO, E. L.; SILVA, A. S. Desenho e validação de iniciadores microssatélites SSR para mamoneira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, p.1457-1463, 2013.
- MADEIRA, N. R.; CARVALHO, A. D. F. **Produção de mudas de mandioquinha-salsa**. In: NASCIMENTO, W. M.; PEREIRA, R. B. (Ed.). Hortaliças de propagação vegetativa: tecnologia de multiplicação. Brasília, DF: Embrapa, 2016. p. 129-150.
- MADEIRA, N. R.; SANTOS, F. F.; SOUZA, R. J. Desempenho de clones de mandioquinha salsa (*Arracacia xanthorrhiza*, Bancroft) na região de Lavras - MG. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 4, p. 711-718, 2002.
- MADEIRA, N. R.; SOUZA, R.J. **Mandioquinha-salsa: alternativa para o pequeno produtor** Lavras: Editora UFLA, 2004. 71p. (UFLA. Boletim Agropecuário, 60).
- MADEIRA, N. R.; TEIXEIRA, J. B. T.; ARIMURA, C. T.; JUNQUEIRA, C. S. Influência da concentração de BAP e GA₃ no desenvolvimento *in vitro* de mandioquinha-salsa. **Horticultura Brasileira**, v. 23, p. 982-985, 2005.
- MADEIRA, N. R. **Micropropagação e indexação de mandioquinha-salsa**. 2004. 141 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.
- MANTEL, N. The detection of disease clustering and generalized regression approach. **Cancer Research**, v.27, p.209-220, 1967.
- MAKSYLEWICZ, A.; BARANSKI, R. Intra-population genetic diversity of cultivated carrot (*Daucus carota* L.) assessed by analysis of microsatellite markers. **Acta Biochimica Polonica**, v. 60, n. 4, p. 753-760, 2013.
- IDARRAGA, D. A. M.; TOCORA, M. R. A.; CAMACHO, N. A. S.; SILVA, J. F. B. Calidad de la harina de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) a partir del método de secado por conducción quality of arracachia flour (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) from the method of drying by conduction. **Revista de Investigación Agraria y Ambiental**, v. 2, n. 1, p. 23-28, 2011.
- MARTÍN, G.; ROVIRA, A.; VECIANA, N.; SOY, J.; TOLEDO-ORTIZ, G.; GOMMERS, C. M.; ... MONTE, E. Circadian waves of transcriptional repression shape PIF-regulated photoperiod-responsive growth in *Arabidopsis*. **Current Biology**, v. 28, n. 2, p. 311-318, 2018.
- MATOS, E.; MARCANO, M.; AZÓCAR, C. J.; MORA, A. Establecimiento y multiplicación *in vitro* de cinco cultivares de apio (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) colectados en Venezuela. **Bioagro**, v. 27, n. 2, p. 121-130, 2015.

- MEDEIROS, J. G.; PEREIRA, W.; MIRANDA, J. E. C. Análise de crescimento em duas cultivares de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 2, n. 2, p. 23-29, 1990.
- MELCHINGER, A.E.; GRANER, A.; SINGH, M.; MESSMER, M.M. Relationships among european barley germplasms: I. Genetic diversity among winter and spring cultivars revealed by RFLPs. **Crop Science**, v. 37, p. 1191-1199, 1994.
- MILACH, S. C. K. Marcadores moleculares nos recursos genéticos e no melhoramento de plantas. In: QUEIRÓZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R., ed. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o nordeste brasileiro**. (on-line). Petrolina: Embrapa Semiárido/Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999.
- MILACH, S. C. K. Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. In: _____. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: UFRGS, 1998. p. 17-28.
- MOHEBALIPOUR, N. et al. Effect of plant growth regulators BAP and IAA on micropropagation of Iranian lemon balm (*Melissa officinalis* L.) landraces. **Journal of Food Agriculture & Environment**, v. 10, n. 1, p. 280-286, 2012.
- MORAIS, T. P. et al. Aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, p. 110-121, 2012.
- MORAIS, T. P.; ASMAR, S. A.; LUZ, J. M. Q. Reguladores de crescimento vegetal no cultivo *in vitro* de *Mentha x Piperita* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, p. 350-355, 2014.
- MORILLO, E.; KNUDSEN, S. R.; SÉCOND, G. Assessment of genetic relationships between cultivated arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr.) and its wild close relatives in the area of domestication using microsatellite markers. **Conservation Genetics**, v. 18, n. 6, p. 1267-1275, 2017.
- MORILLO, E.; MADEIRA, N.; JAIMEZ, R. Arracacha. In: E. GEOFFRIAU; P. W. SIMON (eds.). **Carrots and Related Apiaceae Crops**, 2nd ed. CABI: London, UK, v. 33, p. 245-253, 2020.
- MORILLO, E.; SÉCOND, G. Tracing the domestication of the Andean Root crop arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr.): a molecular survey confirms the selection of a wild form apt to asexual reproduction. **Plant Genetic Resources**, v. 15, n. 5, p. 380-387, 2016.
- MORILLO, E.; SECOND, G.; PHAM; J L.; RISTERUCCI, A. M. Development of DNA microsatellite markers in the Andean root crop arracacha: *Arracacia xanthorrhiza* Banc. (Apiaceae). **Molecular Ecology Notes**, v. 4, n. 4, p.680-682, 2004.
- MORTLEY, D. G.; BURRELL, S.; BONSI, C. K.; HILL, W. A.; MORRIS, C. E. Influence of daily light period and irradiance on yield and leaf elemental concentration of hydroponically grown sweet potato. **HortScience**, v.44, n. 45, p.1491-1493, 2009.
- MUGNANI, R.; JANNUZZI, P. M.; QUONIAM, L. Indicadores bibliométricos da

produção científica brasileira: uma análise a partir da base Pascal. **Ciência da Informação**, v. 33, n. 2, p. 123-131, 2004.

MUNIR, J.; DORN, L. A.; DONOHUE, K.; SCHMITT, J. The effect of maternal photoperiod on seasonal dormancy in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). **American Journal of Botany**, v. 88, n. 7, p. 1240-1249, 2001.

MURASHIGE, T. Principles of rapid propagation. **Propagation of Higher Plants Through Tissue Culture**, p. 14-24, 1979.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

NICHOLAS, D.; RITCHIE, M. **Literature and Bibliometrics**. London: Clive Bingley, 1978.

NIEMANN, M.; WESTPHAL, L.; WRICKE, G.: Analysis of microsatellite markers in carrot (*Daucus carota* L. *sativus*). **J Appl Genet A**. v. 38, p. 20-27, 1997.

NOGUERA, Y.; PACHECO, E. Caracterización física, química y sensorial de hojuelas fritas de apio. **Revista Agronomía Tropical**, v. 50, n. 2, p. 241-252, 2000.

NUNES, E. C.; CASTILHO, C. V.; MORENO, F. N.; VIANA, A. M. *In vitro* culture of *Cedrela fissilis* Vellozo (Meliaceae). **Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 70, n. 3, p. 259-268, 2002.

OLIVEIRA, E. J.; PÁDUA, J. G.; ZUCCHI, M. I.; VENCOVSKY, R.; VIEIRA, M. L. C. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, p. 294-307, 2006.

OLIVEIRA, A. J.; OLIVEIRA, T. C.; SANTOS, A. A. C.; SIQUEIRA, T. A.; DUARTE, w. M.; CALDEIRA, D. S. A.; ... KARSBURG, I. V. Principais marcadores moleculares. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e562101523633-e562101523633, 2021.

OLIVEIRA; L. M.; ORÍLIO; A. F.; INOUE-NAGATA; A. K.; NAGATA; T.; BLAWID; R. A novel vitivirus-like sequence found in *Arracacia xanthorrhiza* plants by high throughput sequencing. **Archives of Virology**, v. 162, n. 7, p. 2141-2214, 2017.

ORÍLIO, A. F.; DUSI, A. N.; MADEIRA, N.R.; INOUE-NAGATA, A.K. First report of Bidens mosaic virus in Arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) from Brazil. **Plant Disease**. v. 101, n. 1, p. 262-262, 2016.

ORÍLIO, A. F.; LUCINDA, N.; DUSI, A. N.; NAGATA, T.; INOUE-NAGATA, A. K. Complete genome sequence of arracacha mottle virus. **Archives of Virology**, v. 158, p. 291-295, 2013.

ORÍLIO, A. F.; BLAWID, R.; COSTA, G. A.; GOMES, S. S.; NAGATA, T.; MADEIRA, N. R., ... RESENDE, R. O. High-throughput sequencing reveals a novel closterovirus in arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*). **Archives of Virology**, v. 163, n. 9, p. 2547-2550, 2018.

PACHECO, M. T.; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, O.; MORENO, F. J.; VILLAMIEL, M.

Andean tubers grown in Ecuador: New sources of functional ingredients. **Food Bioscience**, v. 35, 2020.

PARAN, I.; MICHELMORE, R.W. Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlim, v. 85, p. 985-993, 1993.

PARRA FUENTES, M. **Variabilidad genética de siete cultivares de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) producidos en los municipios de boyacá y turmequé (Boyacá) utilizando marcadores microsatélites** (Trabajo de Grado). Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, Colombia, 2018.

PARRA FUENTES, M.; MUNÉVAR, P. Q.; FERNÁNDEZ, J. H. Selección de marcadores microsatélites (SSR's) para el análisis de variabilidad genética en siete cultivares de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*). **Revista Mutis**, v. 5, n. 2, p. 39-45, 2015.

PEREIRA, A. S. Valor nutritivo da mandioquinha-salsa. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte – MG, v. 19, n. 190, p. 11-12, 1997.

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

PINTO-ACERO, Y. L.; ALVARADO-GAONA, A. E.; BURGOS-AVILA, Y. E.; BALAGUERA-LOPEZ, H. E.; RAMIREZ-GONZALEZ, S. I. Characterization of three *Arracacia xanthorrhiza* Bancroft genotypes using morphological and color parameters. **Rev. Colomb. Cienc. Hortic.**, v. 13, n. 3, p. 426-434, 2019.

PORTZ, A.; MARTINS, C. A. C.; LIMA, E. Crescimento e produção de raízes comercializáveis de mandioquinha-salsa em resposta à aplicação de nutrientes. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 3, p. 485-488, 2003.

QUILAPANTA, R.; DAVILA, M.; VASQUEZ, C.; FRUTOS, V. **Morfotipos de *Arracacia xanthorrhiza* Bancr. (Zanahoria blanca) de Ecuador, como fuente de variabilidad del germoplasma.** **Scientia Agropecuaria** [online], v. 9, n. 2, p. 281-286, 2018.

QUOIRIN, M.; LEPOIVRE, P. Etude de milieux adaptes aux cultures *in vitro* de *Prunus*. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 78, p. 437-422, 1977.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. (2020). R: a language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria.

RADMANN, E. B.; FACHINELLO, J. C.; PETERS, J. A. Efeito de auxinas e condições de cultivo no enraizamento *in vitro* de porta-enxertos de macieira'M-9'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, p. 624-628, 2002.

RAFALSKI, J. A.; VOGEL, J. M.; MORGANTE, M.; POWELL, W.; ANDRE, C.; TINGEY, S. V. Generating and using DNA markers in plants. In: BIRREN, B.; LAI, E. (Ed.). **Nonmammalian Genome Analysis: a practical guide**. San Diego: Academic Press, 1996. p. 75-134.

- RINCÓN RUEDA, M. A.; RUIZ BERRIO, H. D.; MOLANO DÍAZ, J. M.; ALVAREZ HERRERA, J. G.; PINTO ACERO, Y. L. Postharvest characterization of seven arracacho cultivars (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft). **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, [S. l.], v. 74, n. 3, p. 9745-9756, 2021.
- BURGOS, H.; CHAVEZ, C.; JULCA, J.; AMAYA, J. **Arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft)**. Gobierno Regional La Libertad – Gerencia Regional de Recursos Naturales y Gestión del Medio Ambiente. Trujillo. Perú, 2006, 15 p.
- ROHLF, R. NTSYS pc version 2.21m. **Numerical taxonomy analysis system for windows**. New York, Exeter Softwares, 2007.
- ROJAS CRUZ, D. L. C. Z; BARRETO BERNAL, P. C. Diagnóstico de competitividad del sector productor de arracacha. Caso municipio de Boyacá (Colombia) 2014. **Apuntes del CENES**, v. 35, n. 62, p. 245-278, 2016.
- ROJAS, S.; GARCÍA, J.; ALARCÓN, M. **Propagación asexual de plantas**. Corpoica. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Bogotá, 2004. 56 p.
- SANTOS, A. V.; ROSA, C. T. W.; KILLIAN, P. Análise bibliométrica da produção científica nas bases de dados *Scopus* e *Web of Science* sobre Aprendizagem Significativa. **Revista Insignare Scientia-RIS**, v. 3, n. 2, p. 443-459, 2020.
- SANTOS, F. F. Características socioeconômicas no processo de produção de mandioquinha-salsa no Brasil. **Horticultura Brasileira**, v. 11, n. 1, p.95, 1993.
- SANTOS, F. F. Clima, cultivares e época de plantio da mandioquinha-Salsa. **Informe Agropecuário**, v. 19, n. 190, p. 35-37, 1997.
- SANTOS, F. F.; CARMO, S. **Mandioquinha-salsa: manejo cultural**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPB, 1998. 79 p.
- SANTOS, F. F.; CÂMARA, F. L. (ed). **O cultivo da mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*)**. Botucatu: UNESP/CNPB, 1995. 10 p.
- SANTOS, F. F.; VIEIRA, J. V.; PEREIRA, A.S.; LOPES, C.A.; CHARCHAR, J.M. **A cultura da mandioquinha-salsa**. Brasília: EMBRAPA-CNPB/EMBRAPA-SPI, 1993. 28 p.
- SANTOS, F. F.; VIEIRA, J. V.; PEREIRA, S.A.; LOPES, C.A.; CHARCHAR, J.M. **Cultivo da mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*)**. Brasília: EMBRAPA/CNPB, 1991.
- SCARIOLO, F.; PALUMBO, F.; BARCACCIA, G. Molecular characterization and genetic structure evaluation of breeding populations of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). **Agronomy**, v. 12, n. 3, p. 1-12, 2022.
- SEDIYAMA, M. A. N.; SANTOS, M. R.; ALBANEZ, A. C. M. P.; RIBEIRO, J. M. O.; GRANATE, M. J.; VIDIGAL, S. M. Agrosilício na produção de clones de mandioquinha-salsa. **Acta Scientiarum: Agronomy**, v. 31, n. 3, p. 427-432, 2009.
- SEDIYAMA, M. A. N.; VIDIGAL, S. M.; GRANATE, M. J.; SANTOS, M. R.; MASCARENHAS, M. H. T. **Cultura da mandioquinha-salsa ou batata-baroa**. Belo

Horizonte: EPAMIG, 2005. 28 p.

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

SILVA, L. R.; JORGE, R. P. G.; TORALES, E. P.; DO CARMO VIEIRA, M.; ZÁRATE, N. A. H.; ARGADOÑA, E. J. S. Potential of non-commercial parts of *Arracacia xanthorrhiza* Bancroft: biscuit production. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 16, n. 4, p. 401-407, 2021.

SILVA, LUANA MARIA DA. Métodos de propagação de plantas: cultura de tecidos e *in vitro*. In: Simpósio Nacional de Tecnologia em Agronegócio, 8., 2016, Jales. **Anais....** Jales: Fatec, 2016.

SLATKIN, M. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. **Genetics**, v. 130, p. 457-462, 1995.

SLÍVA, Š.; VIEHMANNOVÁ, I.; VÍTÁMVÁS, J. Micropropagation and morphogenesis of apio (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft). **Agricultura Tropica et Subtropica**, v. 43, n. 3., p. 206-211, 2010.

SOMASUNDARAM, K.; MITHRA, V. S. Madhuram: a simulation model for sweet potato growth. **World Journal of Agricultural Sciences**, Dubai, v. 4, n. 2, p.241-254, 2008.

SOUZA, C. A.; COELHO, C. M. M.; GUIDOLIN, A. F.; ENGELSING, M. J.; BORDIN, L. C. Influência do ácido giberélico sobre a arquitetura de plantas de feijão no início de desenvolvimento. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, n. 2, p. 325-32, 2010.

SU, HSIN-NING; LEE, PEI-CHUN. Mapping knowledge structure by keyword co-occurrence: a first look at journal papers in technology foresight. **Scientometrics**, v. 85, n. 1, p. 65-79, 2010.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

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

TRIGIANO, R.; GRAY, D. **Plant Development and Biotechnology**. University of Florida. CRC Press, Boca Raton, Florida. p. 57-89, 2005.

TURCHETTO, C.; TURCHETTO-ZOLET, A. C.; PASSAIA, G.; ZANELLA, C. M. Marcadores genéticos baseados em DNA. In: TURCHETTO-ZOLET, A. C.; TURCHETTO, C.; ZANELLA, C. M.; PASSAIA, G. (org.). **Marcadores moleculares na era genômica: metodologias e aplicações**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, p. 12-20, 2017.

VAN ECK, N. J.; WALTMAN, L. Visualizing bibliometric networks. In: DING, Y.; ROUSSEAU, R.; WOLFRAM, D. **Measuring Scholarly Impact**. Springer, Cham, p.

285-320, 2014.

VASCONCELOS, Y. L. Estudos Bibliométricos: procedimentos metodológicos e contribuições. **Revista de Ciências Jurídicas e Empresariais**, v. 15, n. 2, 2014.

VERPOORTE, R.; CONTIN, A.; MEMELINK, J. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. **Phytochemistry Reviews**, v. 1, n. 1, p. 13-25, 2002.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; PIO, L. A. S.; TEODORO, G. S.; MIYATA, L. Y. Multiplicação *in vitro* de amoreira-preta 'Cherokee': efeito de meios de cultura, cinetina e GA₃. **Revista Ceres**, v. 53, n. 307, p. 357-362, 2006.

VILLORDON, A.; SOLIS, J.; LABONTE, D.; CLARK, C. Development of a prototype Bayesian network model representing the relationship between fresh market yield and some agroclimatic variables known to influence storage root initiation in sweet potato. **Hort Science**, v. 45, n. 8, p. 1167-1177, 2010.

VITAMVAS, J.; VIEHMANNNOVA, I.; CEPKOVA, P.H.; MRHALOVA, H.; ELIASOVA, K. Assessment of somaclonal variation in indirect morphogenesis-derived plants of *Arracacia xanthorrhiza*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 54, p.1-9, 2019.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; VAN DE LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v. 23, p. 4407-4414, 1995.

WANG, S.; YANG, W.; SHEN, H. Genetic diversity in *Apium graveolens* and related species revealed by SRAP and SSR markers. **Scientia Horticulturae**, v. 129, n. 1, p. 1-8, 2011.

WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIC, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, p. 6531-6535, 1990.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa: UFV, 2013, 279 p.

XIAO, Y.; ZHOU, L.; XIA, W.; MASON, A. S.; YANG, Y.; MA, Z.; PENG, M. Exploiting transcriptome data for the development and characterization of gene-based SSR markers related to cold tolerance in oil palm (*Elaeis guineensis*). **BMC Plant Biology**, v. 14, p. 384-396, 2014.

YAN, H.; LIANG, C.; YANG, L.; LI, Y. *In vitro* and *ex vitro* rooting of *Siratia grosvenorii*, a traditional medicinal plant. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 32, n. 1, p. 115-120, 2010.

YANG, L.; FU, S.; KHAN, M. A.; ZENG, W.; FU, J. Molecular cloning and development of RAPD-SCAR markers for *Dimocarpus longan* variety authentication. **SpringerPlus**, v. 2, n. 501, p. 1-8, 2013.

ZABEAU, M. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting. **European Patent Application**, n. 0534858, 1993.

ZANIN, A. C. W.; CASALI, V. W. D. Efeitos climáticos sobre a mandioquinha-salsa. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 10, n. 120, p. 57-59. 1984a.

ZANIN, A. C. W.; CASALI, V. W. D. Origem, distribuição geográfica e botânica da mandioquinha-salsa. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 10, n. 120, p. 9-11, 1984b.

ZÁRATE, N. A. H.; VIEIRA, M. D. C.; RECH, J.; QUAST, A.; PONTIM, B. C. Á.; GASSI, R. P. Yield and gross income of arracacha in monocrop and intercropping with the Japanese bunching onion and parsley. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 287-291, 2008.

ZHENG, S.; HU, H.; REN, H.; YANG, Z.; QIU, Q.; QI, W.; ... DU, J. The *Arabidopsis* H3K27me3 demethylase JUMONJI 13 is a temperature and photoperiod dependent flowering repressor. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 1-11, 2019.