



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE



**PROPAGAÇÃO VEGETATIVA E DIVERSIDADE GENÉTICA
DE INHAME (*Dioscorea* sp.)**

CRISLAINE ALVES DOS SANTOS



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**



CRISLAINE ALVES DOS SANTOS

**PROPAGAÇÃO VEGETATIVA E DIVERSIDADE GENÉTICA DE INHAME
(*Dioscorea* sp.)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Doutora em Ciências”.

Orientadora
Prof. Dra. Maria de Fátima Arrigoni-Blank

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2024

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

S237p Santos, Crislaine Alves dos.
Propagação vegetativa e diversidade genética de inhame (*Dioscorea* sp.) / Crislaine Alves dos Santos; orientadora Maria de Fátima Arrigoni-Blank. – São Cristóvão, SE, 2024.
86 f. : il.

Tese (doutorado em Agricultura e Biodiversidade) – Universidade Federal de Sergipe, 2024.

1. Inhame. 2. Germoplasma vegetal - Recursos. 3. Tubérculo (Botânica). 4. Biodiversidade. 5. Bibliometria. 6. Marcadores genéticos I. Arrigoni-Blank, Maria de Fátima, orient. II. Título.

CDU 633.496

CRISLAINE ALVES DOS SANTOS

PROPAGAÇÃO VEGETATIVA E DIVERSIDADE GENÉTICA DE INHAME
(*Dioscorea* sp.)

Tese apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Doutora em Ciências”.

APROVADA em 27 de fevereiro de 2024.

Dr. José Luiz Sandes de Carvalho Filho (UFRPE)

Dra. Ana Catarina Oliveira Lima (IFS)

Dr. Arie F. Blank (UFS)

Dra. Itamara Bomfim Gois (UFS)

Profa. Dra. Maria de Fátima Arrigoni-Blank
(Orientadora/UFS)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL

*A todos que contribuíram para a minha
formação pessoal e profissional*
Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por ter me dado a sabedoria e a força necessária para vencer todos os desafios que foram surgindo ao longo desses quatro anos.

Aos meus pais, Leonardo e Josefa, por todo apoio, incentivo e por serem presentes em minha vida, dando sempre conselhos preciosos.

Às minhas irmãs, Gizélia, Cristiana, Lidiane e Lucelia, pelos conselhos e pela disponibilidade em ajudar sempre que precisava. Vocês sempre foram minhas incentivadoras.

Às minhas sobrinhas, Vitória e Monalisa, pelos momentos de descontração e carinho. Fico feliz em saber que sou um exemplo para vocês.

À professora Dra. Maria de Fátima Arrigoni Blank, pela orientação, apoio, paciência, dedicação e por todos os conselhos para o meu crescimento profissional. Muito obrigada pela oportunidade de ser sua orientanda durante esses seis anos!

À professora Dra. Itamara Bomfim Gois, pela coorientação, apoio, amizade e pela disponibilidade e alegria em ajudar. Obrigada por tudo que vivemos juntas ao longo desses quase cinco anos!

Ao professor Dr. Arie Fitzgerald Blank, por toda contribuição para realização deste trabalho e pelos conselhos para o meu crescimento profissional. Muito obrigada por tudo!

Aos meus colegas Lucas, Sara, Taíse, Laura, que tanto me ajudaram durante as realizações dos experimentos.

À pesquisadora Dra. Ana Veruska e ao técnico Sílvio Gomes, da Embrapa Tabuleiro Costeiro, por possibilitar que parte da pesquisa fosse realizada no Laboratório de Biologia Molecular, dando todo apoio necessário e compartilhando seus conhecimentos.

Às minhas amigas Irla, Márcia e Verônica, pela motivação e amizade.

Aos meus colegas da UFS Carlos, Airton, Luiz Fernando, Rose e William, pelas conversas e por sempre estarem disponíveis para ajudar.

À Universidade Federal de Sergipe e ao Programa de Pós-graduação em Agricultura e Biodiversidade, pela estrutura e oportunidade de realização do doutorado.

À CAPES, pela concessão de bolsa de estudos.

A todos os professores do PPGAGRI que contribuíram para minha formação e aos demais funcionários.

Aos produtores de inhame do município de Malhador/SE, em especial o Sr. Clodoaldo e Sr. Cícero, por todas as vezes que me receberam em suas propriedades, compartilhando suas experiências com a cultura e fornecendo material para os experimentos.

Enfim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a minha formação.

Gratidão!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	ii
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS	iv
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	9
4. ARTIGO 1: PROPAGAÇÃO E ANÁLISE MOLECULAR EM <i>DIOSCOREA</i> : UMA REVISÃO BIBLIOMÉTRICA.....	16
Resumo.....	16
4.1. Introdução	16
4.2. Material e Métodos	18
4.3. Resultados	19
4.4. Discussões	21
4.5. Perspectivas futuras	25
4.6. Conclusão	25
4.7. Referências Bibliográficas	25
5. ARTIGO 2: TUBERIZAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE INHAME (<i>DIOSCOREA</i> sp.): SACAROSE, ESPECTROS DE LUZ E REGULADORES DE CRESCIMENTO.....	46
Resumo.....	46
5.1. Introdução	46
5.2. Material e Métodos	47
5.3. Resultados e discussão	49
5.4. Conclusões	54
5.5. Referências Bibliográficas	54
6. ARTIGO 3: DIVERSIDADE GENÉTICA DE INHAME (<i>Dioscorea</i> sp.) POR MEIO DE MARCADORES MORFOLÓGICOS E MOLECULARES	56
Resumo.....	56
6.1. Introdução	57
6.2. Material e Métodos	57
6.3. Resultados	60
6.4. Discussão	62
6.5. Conclusões	65
6.6. Referências Bibliográficas	65
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	86

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

Figura		Página
1	Fluxograma da prospecção científica sobre propagação do gênero <i>Dioscorea</i> , modelo PRISMA 2020 (Haddaway et al., 2020)	40
2	Fluxograma da prospecção científica sobre caracterização molecular do gênero <i>Dioscorea</i> modelo PRISMA 2020 (Haddaway et al., 2020).....	41
3	Co-ocorrência de palavras-chave de publicações sobre propagação do gênero <i>Dioscorea</i>	42
4	Mapa temático de publicações sobre propagação do gênero <i>Dioscorea</i>	43
5	Co-ocorrência de palavras-chave de publicações sobre caracterização molecular do gênero <i>Dioscorea</i>	44
6	Mapa temático de publicações sobre caracterização molecular do gênero <i>Dioscorea</i>	45

ARTIGO 2

Figura		Página
1	Porcentagem de tuberização <i>in vitro</i> de <i>Dioscorea</i> sp. em função das concentrações de ANA e sacarose	49

ARTIGO 3

Figura		Página
1	Locais de origem dos 52 genótipos de <i>Dioscorea</i> sp. provenientes da região Nordeste do Brasil	79
2	Análise de componentes principais (PC) para os 52 genótipos de <i>Dioscorea</i> sp. provenientes dos estados de Sergipe (SE), Bahia (BA), Alagoas (AL) e Paraíba (PB) baseado nas variáveis morfoagronômicas	80
3	Coeficientes de correlação entre os descritores morfológicos avaliados em 52 genótipos de <i>Dioscorea</i> sp.	81
4	Dendrograma obtido por meio do método de agrupamento UPGMA com base na matriz de dissimilaridade de Gower's entre os 52 genótipos de <i>Dioscorea</i> sp.	82
5	Dendrograma obtido por meio do método de agrupamento UPGMA com base na distância genética de Jaccard (Rogers, 1972) entre os 52 genótipos de <i>Dioscorea</i> sp.	83
6	Análise de Coordenadas Principais (PCoA) para os 52 genótipos de <i>Dioscorea</i> sp. provenientes dos estados de Sergipe (SE – quadrados roxos), Bahia (BA – bolas laranjas), Alagoas (AL – triângulos azuis) e Paraíba (PB – losangos verdes)	84
7	Estrutura genética estimada para 52 genótipos de <i>Dioscorea</i> sp. provenientes dos estados de Sergipe (SE), Bahia (BA), Alagoas (AL) e Paraíba (PB)	85

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela	Página
1 Resumo dos temas abordados nas publicações sobre propagação do gênero <i>Dioscorea</i> , entre 2000-2022, prospectadas nas bases Web of Science e Scopus	35
2 Marcadores moleculares, espécie e objetivo para os quais foram utilizados, em estudos de caracterização molecular do gênero <i>Dioscorea</i> , prospectadas nas bases Web of Science e Scopus	38

ARTIGO 2

Tabela	Página
1 Número de microtubérculos por planta, diâmetro e massa fresca de microtubérculos de <i>Dioscorea</i> sp. sob diferentes concentrações de sacarose e ácido 1-naftaleno-acético (ANA).....	50
2 Porcentagem de tuberização, número e diâmetro de microtubérculo de <i>Dioscorea</i> sp. em função do espectro de luz, ácido 1-naftaleno-acético (ANA) e cinetina (CIN)	51
3 Massa fresca de microtubérculos (mg) de <i>Dioscorea</i> sp. em função dos espectros de luz e das diferentes concentrações de ácido 1-naftaleno-acético (ANA) e cinetina (CIN)	53

ARTIGO 3

Tabela	Página
1 Lista dos 52 genótipos de <i>Dioscorea</i> sp. avaliados com o local e cidade de aquisição, estado e cidade de origem	69
2 Descritores utilizados na caracterização morfológica dos 52 genótipos <i>Dioscorea</i> sp.	70
3 Primers SSR e ISSR utilizados na caracterização molecular dos 52 genótipos de <i>Dioscorea</i> sp.	71
4 Parâmetros de variabilidade genética para os descritores morfológicos florescimento (FL), hábito de crescimento (GH), número de caule (NS), cor do caule (SC) e diâmetro de caule (SD), presença de asa (PrW), posição da asa (PW) e tamanho da asa (WS), número de espinhos (NT) e presença de raiz de sustentação (PSR) avaliados em 52 genótipos de <i>Dioscorea</i> sp.	72
5 Parâmetros de variabilidade genética para os descritores morfológicos formato da folha (LS), distância entre lóbulos (LD), área foliar (LA), comprimento do pecíolo (PL), 11 (largura no centro da folha), 12 (largura dos lóbulos foliar), L2 (Comprimento do ápice foliar à inserção do pecíolo) e L3 (comprimento do lóbulo foliar) avaliados em 52 genótipos de <i>Dioscorea</i> sp.	73
6 Parâmetros de variabilidade genética para os descritores morfológicos número de tubérculo (NT), número de raiz na superfície do tubérculo (NRS), forma do tubérculo (TS), comprimento do tubérculo (TL), diâmetro do tubérculo (TD), massa fresca do tubérculo (TFW) e cor da polpa (PC) avaliados em 52 genótipos de <i>Dioscorea</i> sp.	74
7 Caracterização morfológica de 52 genótipos de <i>Dioscorea</i> sp. baseada em seis descritores qualitativos	75

8	Caracterização morfológica de 52 genótipos de <i>Dioscorea</i> sp. baseada em seis descritores qualitativos	76
9	Caracterização morfológica de 52 genótipos de <i>Dioscorea</i> sp. baseada em descritores quantitativos	77
10	Estimativas dos parâmetros de variabilidade genética para os 52 genótipos de <i>Dioscorea</i> sp.	78

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
BAP	6-benzilaminopurina
ANA	Ácido 1-naftaleno-acético
JA	Ácido jasmônico
LED	Light Emitir Diodo
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat
SSR	Simple Sequence Repeat
AFLP	Amplified Fragment Leght Polymorphism
RAPD	Rondomly Amplified Polymorphic DNA
PCR	Polymerase Chain Reaction
Hptlc	Hight Performance Thin Leaver Chromatography
DArTseq-SNP	Diversity Array Technology – Single Nucleotide Polymorphism
ISAP	Intron Sequence Amplified Polymorphism
SRAP	Sequence Related Amplified Polymorphism
SCoT	Start Codon Targeted
ISTR	Inverse Sequence Tagged Repeat
SCAR	Sequence Characterized Amplified Region
KIN	Cinetina
TDZ	Thiadiazuron
AIB	Ácido indol-3-butírico
2,4-D	Ácido 2,4-diclorofenoxiacético
IAA	Ácido Indolacético
IBA	Ácido indol-3-butírico
BA	Benziladenina
CIN	Cinetina
CO ₂	Dióxido de Carbono
CIS	Sistema de Imersão Constante
SLS	Meio Static Liquid Culture System
CEASA	Central de Abatecimento de Sergipe
mg.L ⁻¹	Miligrama por litro
g	Gramma
L	Litro
mg	Miligrama
g.L ⁻¹	Gramma por litro
mm	Milímetro
cm	Centímetro
mL	Mililitro
atm	Atmosfera
°C	Grau Celsius
W	Watts
t	Tonelada
t/ano	Tonelada por ano
ha	Hectare
μmol.m ⁻² .s ⁻¹	Micromoles por metro quadrado por segundo
CV	Coefficiente de Variação
PCA	Análise de Componentes principais
PCoA	Análise de Coordenadas Principais

IPGRI	International Plant Genetic Resources Institute
UPGMA	Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages
σ_g^2	Variância genética
σ_e^2	Variância ambiental
σ_p^2	Variância fenotípica
h_b^2	Herdabilidade no sentido amplo
CV_g	Coeficiente de Variação genotípica
CV_e	Coeficiente de Variação ambiental
CTAB	Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
PVP	Polivinilpirrolidona
NaCl	Cloreto de Sódio
PA	Puro
mM	Milimolar
M	Molar
μmL^{-1}	Micro litro por mililitro
μL	Micro litro
μM	Micromolar
ng	Nanograma
$\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$	Nanograma por microlitro
V	Volts
RNAse	Ribonuclease
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
TBE	Solução tampão a base de tris, ácido bórico e EDTA
U	Unidade
dNTP	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
Na	Número de alelos observados
Ne	Número de alelos efetivos
I	Índice de informação de Shannon
He	Heterozigosidade esperada
%P	Porcentagem de polimorfismo
K	Valor de agrupamento genético
MCMC	Markov Chain Monte Carlo
PIC	Conteúdo de Informação Polimórfica
SE	Sergipe
BA	Bahia
AL	Alagoas
PB	Paraíba
Ta	Temperatura de anelamento
NBT	Número de bandas total
$\bar{X}$	Média
Max	Máximo
Min	Mínimo
n.s	Não significativo
sd	Desvio padrão
FL	Florescimento
GH	Hábito de crescimento
NS	Número de caule
SC	Cor do caule
SD	Diâmetro de caule
PrW	Presença de asa
PW	Posição da asa
WS	Tamanho da asa

NT	Número de espinhos
PSR	Presença de raiz de sustentação
LS	Forma da folha
LD	Distância entre lóbulos
LA	Área foliar
PL	Comprimento do pecíolo
l1	Largura no centro da folha
l2	Largura dos lóbulos foliar
L2	Comprimento do ápice foliar à inserção do pecíolo
L3	Comprimento do lóbulo foliar
NT.1	Número de tubérculo
NRS	Número de raiz na superfície do tubérculo
TS	Forma do tubérculo
TL	Comprimento do tubérculo
TD	Diâmetro do tubérculo
TFW	Massa fresca do tubérculo
PC	Cor da polpa
PTR	Presença de tubérculo
SR	Raiz de sustentação

RESUMO

SANTOS, Crislaine Alves dos. **Propagação vegetativa e diversidade genética de inhame (*Dioscorea* sp.)**. São Cristóvão: UFS, 2024. 86p. (Tese – Doutorado em Agricultura e Biodiversidade).*

O inhame (*Dioscorea* sp.) é uma cultura de importância alimentar e econômica para a região Nordeste do Brasil. A baixa disponibilidade de material propagativo com brotação uniforme e livre de doenças é uma das limitações existentes em cultivos comerciais e a cultura de tecidos surge como uma técnica alternativa para a produção de microtubérculos. Além disso, a elaboração de estratégias de conservação/uso deste recurso genético, gerido pelos agricultores, deve ser realizada por meio da caracterização morfológica e molecular do germoplasma do inhame, com a finalidade de melhorar a sustentabilidade do sistema. Assim, o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o estado da arte das duas temáticas (propagação vegetativa e diversidade genética), de desenvolver um protocolo de propagação *in vitro* e de estimar a diversidade genética entre genótipos de *Dioscorea* sp. provenientes de diferentes estados da região Nordeste. O primeiro capítulo engloba uma revisão sistemática com análise bibliométrica sobre propagação e caracterização molecular do gênero *Dioscorea*. Foram abordados quais autores, periódicos, países e afiliações são mais produtivos e quais são os temas mais desenvolvidos e importantes em cada campo da pesquisa. Observou-se que Nigéria e China se destacaram com publicações sobre as temáticas para o gênero *Dioscorea*, e os temas mais desenvolvidos são: propagação por meio de cultura de tecidos e a caracterização molecular para estimativa da diversidade e estrutura genética. No segundo capítulo, foi estudado o efeito da sacarose, de espectros de luz e de reguladores de crescimento na tuberização *in vitro* de inhame para subsidiar a elaboração de protocolos de produção de microtubérculos. Maior diâmetro (7,88 mm) e massa fresca (166,13 mg) foram obtidos ao aumentar a concentração de sacarose para 90 g.L⁻¹, enquanto, maiores médias para massa fresca foram observadas para os espectros de luz branca e azul (320,4 e 276,8 mg, respectivamente) sem adição de CIN (0,0 mg.L⁻¹) e com 1,0 mg.L⁻¹ de ANA. No terceiro capítulo, foi realizado um estudo para avaliar a diversidade genética entre genótipos de inhame provenientes de diferentes estados da região Nordeste do Brasil, por meio de marcadores morfológicos e moleculares. A diversidade genética foi estimada para 52 genótipos de inhame provenientes de Sergipe, Bahia, Alagoas e Paraíba, por meio de 31 descritores morfológicos e marcadores SSR (Simple Sequence Repeat) e ISSR (Inter Sequence Simple Repeat). Observou-se alta diversidade genética entre os genótipos avaliados e baixa diversidade entre os locais de coleta.

Palavras-chave: Bibliometria; cultura de tecidos; marcador molecular; fenótipo; germoplasma.

* Comitê Orientador: Maria de Fátima Arrigoni-Blank – UFS (Orientadora), Itamara Bomfim Gois – UFS (Co-orientadora).

ABSTRACT

SANTOS, Crislaine Alves dos. **Vegetative propagation and genetic diversity of yam (*Dioscorea* sp.)**. São Cristóvão: UFS, 2024. 86p. (Thesis - Doctor of Science in Agriculture and Biodiversity).*

The yam (*Dioscorea* sp.) is a crop with economic and alimentary importance for the Northeast region of Brazil. The low availability of propagative material with uniform sprouting and free of diseases is one of the limitations in commercial cultivation, thus, tissue culture emerges as an alternative technique for microtuber production. Furthermore, the development of conservation/use strategies for this genetic resource, managed by farmers, should be conducted through morphological and molecular characterization of yam germplasm to enhance the sustainability of the system. Thus, this study was conducted with the aim of evaluating the state of the art in two themes (vegetative propagation and genetic diversity), developing an *in vitro* propagation protocol, and estimating the genetic diversity among *Dioscorea* sp. genotypes from different states in the Northeast region of Brazil. The first chapter encompasses a systematic review with bibliometric analysis on the propagation and molecular characterization of the *Dioscorea* genus. The study examines which authors, journals, countries, and affiliations are more productive and which are the most developed and important topics in each research field. It was observed that Nigeria and China stood out, with publications on *Dioscorea*, and the most developed topics were tissue culture propagation and molecular characterization for estimating diversity and genetic structure. In the second chapter, the effect of sucrose, light spectra, and growth regulators on *in vitro* yam tuberization was studied to support the development of microtuber production protocols. Larger diameter (7.88 mm) and fresh weight (166.13 mg) were obtained by increasing sucrose concentration to 90 g.L⁻¹, while higher average fresh weight was observed for white and blue light spectra (320.4 and 276.8 mg, respectively) without the addition of CIN (0.0 mg.L⁻¹) and with 1.0 mg.L⁻¹ of ANA. The third chapter conducted a study to assess the genetic diversity among yam genotypes from different states in the Northeast region of Brazil, using morphological and molecular markers. Genetic diversity was estimated for 52 yam genotypes from Sergipe, Bahia, Alagoas, and Paraíba, using 31 morphological descriptors, SSR (Simple Sequence Repeat) and ISSR (Inter Sequence Simple Repeat) markers. High genetic diversity was observed among the evaluated genotypes, with low diversity among collection locations.

Key-words: Bibliometrics; tissue culture; molecular marker; phenotype; germplasm.

* Guidance Committee: Maria de Fátima Arrigoni-Blank (Advisor), Itamara Bomfim Gois (Adjunct advisor).

1. INTRODUÇÃO GERAL

O gênero *Dioscorea* possui mais de 600 espécies domesticadas e selvagens encontradas em regiões da África, Ásia e América. A cultura do inhame (*Dioscorea* sp.) é conhecida por produzir tubérculos comestíveis, importantes para a segurança alimentar em vários países, além de ser utilizada na fabricação de medicamentos e possuir potencial uso industrial (Andres *et al.*, 2017). No Brasil, o cultivo do inhame se destaca na região Nordeste, sendo amplamente difundido nos estados de Pernambuco, Paraíba, Bahia, Alagoas e Sergipe. Nessa Região, a cultura tem suma importância, pois é fonte de alimento, renda e emprego para pequenos e médios agricultores (Santos *et al.*, 2007).

Devido à baixa taxa de floração em muitas cultivares e à assincronia entre a produção de flores masculinas e femininas, a principal forma de propagação é a vegetativa (Abraham *et al.*, 2013). Normalmente, a propagação é feita por meio do plantio de túberas-semente inteiras ou por fragmentos destas. No entanto, este método de propagação apresenta limitações, tais como a baixa taxa de brotação, que gera desuniformidade de plantio, e problemas fitossanitários (Borges-García *et al.*, 2018). Sendo assim, são necessárias pesquisas que busquem alternativas para melhorar o sistema de produção de mudas, as quais devem proporcionar brotação uniforme e ser livres de patógenos.

A micropropagação é uma alternativa para a produção em massa de mudas de alta qualidade para diversas espécies vegetais (Silva *et al.*, 2017). Além da produção de plântulas *in vitro*, também é possível induzir a tuberização de espécies que apresentam órgãos de armazenamento (Ovono *et al.*, 2010). Essa indução pode ser influenciada por reguladores de crescimento, concentração de sacarose e condições do ambiente de crescimento da planta.

Além dos problemas relacionados à propagação, há poucas informações sobre a diversidade genética do inhame produzido na região Nordeste do Brasil. No entanto, estes estudos são importantes para o desenvolvimento de estratégias para a conservação e uso de variedades tradicionais, que são fontes de alelos para características de interesse, como resistência a pragas e doenças e tolerância à seca (Nascimento *et al.*, 2015). A diversidade genética pode ser avaliada por meio da caracterização morfológica e molecular.

Portanto, esta pesquisa foi realizada com o objetivo de compreender a estrutura das pesquisas publicadas na área de propagação e caracterização molecular do gênero *Dioscorea*, com base na análise bibliométrica, de avaliar o efeito da sacarose, de espectros de luz e de reguladores de crescimento na tuberização *in vitro* de inhame para subsidiar a elaboração de protocolos de produção de microtubérculos e de avaliar a diversidade genética de genótipos de *Dioscorea* sp. provenientes de alguns estados do nordeste brasileiro, por meio das caracterizações morfológica e molecular.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais da cultura

O inhame (*Dioscorea* sp.) é uma hortaliça tuberosa conhecida popularmente no Brasil como cará, cará-da-costa, inhame-da-costa e inhame-de-são-tomé. O gênero *Dioscorea* pertence à família Dioscoreaceae e possui mais de 600 espécies. No Brasil, ocorrem cerca de 130 espécies desse gênero (Souza e Lorenzi, 2012), dentre as quais 14 espécies produzem tubérculos comestíveis que são exploradas comercialmente (Pedralli, 2002). As principais espécies cultivadas no Brasil são *Dioscorea alata*, *D. cayennensis*, *D. rotundata*, *D. esculenta* e *D. trifida*, todas destinadas à alimentação humana (Ferreira, 2011).

As espécies do gênero *Dioscorea* estão distribuídas na África, Ásia, América do Sul, Caribe e nas ilhas do Pacífico Sul. Os possíveis centro de origem desse gênero são: África Ocidental, sudeste da Ásia e América tropical. Diferentes espécies do gênero *Dioscorea* podem ter diferentes regiões de origem (Andres *et al.*, 2017). Acredita-se que as espécies *D. alata* e *D. esculenta* são originárias da Índia Central, *D. cayennensis* e *D. rotundata* da África e *D. trifida* das Américas Central e Sul (Carvalho *et al.*, 2009).

É uma planta monocotiledônea, herbácea e trepadeira (FIGURA 1A) (Santos *et al.*, 2002), além de ser dióica, com flores masculinas e femininas produzidas em plantas diferentes (Norman *et al.*, 2020). As flores nascem em espigas axilares (FIGURA 1B) e os genótipos masculinos com flores que geralmente superam as dos femininos. As masculinas são sésseis, glabras e esféricas e são carregadas axialmente ou terminalmente. As femininas têm cerca de 0,5 cm de comprimento; seu ovário é trilobular, sendo cada lóculo com 2 a 3 óvulos e localizado abaixo da corola (Mondo *et al.*, 2020). Em condições ideais ocorre o florescimento e, quanto ao sistema reprodutivo, é uma espécie predominantemente alógama (Monteiro e Peressin, 2002).



FIGURA 1 - Planta herbácea e trepadeira de inhame (A) e florescimento (B). Fonte: Arquivo pessoal

Os frutos são cápsulas deiscentes (Monteiro e Peressin, 2002), sendo que apenas uma pequena proporção apresenta sementes férteis (Girma *et al.*, 2019). A semente de inhame consiste em um pequeno embrião cercado por um endosperma. Algumas sementes de espécies de inhame, como *D. rotundata*, ficam dormentes por um longo período (3-4 meses) após a colheita. Outras, como as de *D. alata*, não apresentam dormência e podem germinar imediatamente após a secagem (Mondo *et al.*, 2020). A germinação começa dez dias após a semeadura e pode durar um mês (Darkwa *et al.*, 2020).

Infelizmente, na maioria das vezes, as variedades que apresentam as características mais desejáveis são aquelas que não florescem (Lebot, 2009). Devido à dificuldade de florescimento em cultivos comerciais, a principal forma de propagação da cultura adotada pelos produtores é a vegetativa, feita por meio de túberas-semente (Borges-García *et al.*, 2018).

O número básico de cromossomos para as espécies do gênero *Dioscorea* é $x=10$, sendo comum a ocorrência de poliploidia em cultivos comerciais (Paul e Debnath, 2019). Em trabalho realizado com *D. alata*, verificou-se que as formas mais comuns foram as diploides, seguidas das triploides e tetraploides. Essa maior ocorrência de diploides pode ser explicada pela baixa ocorrência de autopoliploidização, somada ao florescimento errático dos diploides (Sharif *et al.*, 2020).

A cultura apresenta quatro estádios de desenvolvimento. O primeiro é o de dormência fisiológica das túberas-semente, fase que se caracteriza pelo não surgimento de brotação, com duração de 30 a 150 dias (Santos, 2008). O estágio vegetativo compreende o período de brotação ao início do florescimento, com duração de 80 a 180 dias (Santos *et al.*, 2007). O reprodutivo vai do início da floração, aos 180 dias, à secagem das flores, aos 210 dias do plantio. Nele, ocorre a maturação parcial do tubérculo, que pode ser colhido para fim comercial (Oliveira *et al.*, 2011). O estágio fisiológico de maturação vai do término da floração à colheita, dos 210 a 300 dias após o plantio, sendo caracterizado pelo murchamento e secagem do caule, ramos e folhas das plantas (Andres *et al.*, 2017).

O plantio de inhame é feito em camalhões e, no Nordeste, o plantio de sequeiro é realizado entre os meses de fevereiro e março. Os principais tratos culturais para condução de cultivos comerciais de inhame são o tutoramento, controle de plantas infestantes, adubação e calagem e controle de pragas e doenças (Santos *et al.*, 2007).

Em relação à colheita do inhame, esta pode ser realizada aos 210 dias após o plantio, quando o objetivo é produzir inhames para a comercialização no período de entressafra e obter as túberas-semente pelo processo de capação, ou aos 270 dias, quando são produzidos apenas inhames para a comercialização (Oliveira *et al.*, 2011). Desta forma, a depender da época de colheita, cada planta de inhame pode produzir dois tipos de tubérculos: os que são destinados para o comércio (inhame comercial) e os que são utilizados como material propagativo (túberas-semente) (Peixoto Neto *et al.*, 2000).

2.2 Importância econômica

A cultura do inhame é a quarta cultura de hortaliça tuberosa mais importante do mundo, ficando atrás apenas da batata (*Solanum tuberosum* L.), mandioca (*Manihote sculenta* Crantz) e batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) (FAO, 2021). A produção se destaca em países tropicais da África Ocidental, sendo os maiores produtores a Nigéria e Gana, cuja produção representa 80% do total produzido no mundo, com 58.687.255 t/ano e área plantada de 6.351.852 ha. O Brasil fica na 12ª posição na produção mundial e é o segundo maior produtor da América do Sul, com uma produção estimada de 252.878,72 t em 2021, ficando atrás apenas da Colômbia (FAO, 2021).

No Nordeste, a produção se concentra nos estados da Paraíba, Bahia, Alagoas, Sergipe, Maranhão e Pernambuco. Nessa região, o cultivo do inhame apresenta importância socioeconômica por gerar emprego, renda e alimento para os pequenos e médios produtores agrícolas (Santos *et al.*, 2007). Adicionalmente, a cultura é fonte de minerais, carboidratos e de vitaminas B1, B2, A e C para quem a consome (Oliveira *et al.*, 2013).

Quanto à comercialização no Brasil, este é vendido principalmente *in natura*. Normalmente, a produção é destinada a feiras livres, supermercados e mercados atacadistas, por meio de atravessadores que dominam o mercado (Mendes *et al.*, 2013).

No que se refere ao consumo no Brasil, a utilização como alimento se destaca, sendo preparado de diferentes formas de acordo com as tradições locais. Apresenta-se como uma alternativa relativamente saudável, por possuir um baixo índice glicêmico (Mendes *et al.*, 2013). Apesar de não ser totalmente explorado, o inhame possui potencial uso industrial como fonte de amido, para produção de farinha e para produção de chips (Andres *et al.*, 2017). No entanto, apesar da sua importância para pequenos produtores, para a agricultura tradicional e economias locais, a cultura do inhame ainda é negligenciada no Brasil (Siqueira, 2011).

Algumas espécies do gênero *Dioscorea* são utilizadas na medicina tradicional Chinesa contra uma série de doenças, como distúrbios gastrointestinais, diarreia, dor nas articulações e anemia (Chen *et al.*, 2015). As propriedades medicinais estão relacionadas a compostos bioativos presentes em algumas espécies deste gênero, que são utilizados pela indústria farmacêutica, como por exemplo a diosgenina (Semwal *et al.*, 2021). A diosgenina é uma sapogenina bioativa extraída de tubérculos pertencentes à família Dioscoreaceae, comercialmente utilizada na fabricação de hormônios sexuais, contraceptivos orais e outras drogas esteróides importantes (Raina e Misra, 2020).

2.3 Propagação da cultura

A principal forma de propagação da cultura do inhame é a vegetativa. A reprodução sexual é dificultada devido à baixa taxa de floração em muitas cultivares e, quando esta ocorre, existe assincronia entre a produção de flores masculinas e femininas (Abraham *et al.*, 2013).

O material de plantio utilizado por produtores de inhame é a túbera-semente inteira ou fragmentos desta (FIGURAS 2A; 2C). A utilização da túbera-semente inteira proporciona uma brotação mais rápida e, quando plantada, possibilita uniformidade das plantas e aumento da produção de túberas comerciais (Silva, 2002). A técnica da capação é o método mais utilizado pelos agricultores para obtenção da túbera-semente, sendo realizado normalmente aos 210 dias após o plantio (Santos *et al.*, 2007).



FIGURA 2 - Túberas-semente inteiras emitindo brotação (A); túbera-semente obtida pelo processo de capação (B); fragmento de túbera-semente emitindo brotação (C). Fonte: Arquivo pessoal

A técnica da capação consiste em separar o tubérculo comercial da planta-mãe por meio de corte no ponto de ligamento entre a protuberância e o tubérculo comercial, deixando no mínimo 3 a 4 raízes da planta (Santos, 2008). Depois de retirar o inhame comercial, cobrem-se as raízes com solo para que a planta produza tubérculos menores e arredondados (túberas-semente) (FIGURA 2B), que poderão ser colhidos 90 dias após a ‘capição’ (Santos *et al.*, 2007). Após colhidas, as túberas-semente são armazenadas em local sombreado, livre de excesso de umidade, com temperatura entre 25°C a 30°C, para a boa conservação do material propagativo. As túberas-semente passam por esse período de repouso fisiológico, o qual é necessário para a quebra de dormência, até a emergência das brotações, quando estarão aptas para o plantio (Santos, 2008).

Uma das desvantagens desse método de propagação é o baixo índice de velocidade de emergência das brotações, o que gera desuniformidade de plantio. Além disso, a qualidade das túberas-semente pode ser afetada pela infestação por patógenos como fungos, bactérias e,

principalmente, nematóides, reduzindo a produtividade da cultura. As espécies *Meloidogyne* spp., *Scutellonema bradys* e *Pratylenchus coffeae* são as que mais causam danos ao material propagativo (Tesson, 2004). A dificuldade de obtenção de material propagativo livre de patógenos advém do fato de que os produtores obtêm seu próprio material para plantio sem selecionar plantas isentas de doenças ou em área com alta incidência de doenças (Santos *et al.*, 2007).

Outra problemática observada em cultivos comerciais é o alto custo de aquisição das túberas-semente, que chega a representar 55% dos custos operacionais do sistema de produção de inhame (Santos *et al.*, 2021). Portanto, são necessárias novas pesquisas para o desenvolvimento de alternativas viáveis visando a produção de material propagativo de inhame de boa qualidade (Borges-García *et al.*, 2018).

Pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de buscar alternativas para a melhoria do sistema de produção de inhame, como a produção de túberas-semente por meio de sistema adensado (Oliveira *et al.*, 2012), técnica miniset (Andres *et al.*, 2017), propagação por meio do enraizamento de estacas caulinares (Agele *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2014; Uyoh *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2023) e cultivo *in vitro* (Yan *et al.*, 2011; Suprya Das *et al.*, 2013; Borges *et al.*, 2015).

2.3.1 Tuberização *in vitro*

A micropropagação é uma alternativa para a produção de mudas de alta qualidade para diversas espécies vegetais. Neste sistema, as plantas são cultivadas *in vitro* com meios nutritivos adequados e sob condições controladas de temperatura, luminosidade e fotoperíodo (Silva *et al.*, 2017). Além dessas condições, também é importante a suplementação do meio de cultura com reguladores de crescimento, para favorecer o crescimento e multiplicação das plantas (Monfort *et al.*, 2012). Esta técnica permite a propagação de material livre de patógenos e vírus (cultura de meristemas), além de facilitar a multiplicação de espécies de difícil propagação vegetativa *in vivo* (Silva *et al.*, 2015; Copatti *et al.*, 2016).

O cultivo *in vitro* permite também a indução de tuberização de espécies que apresentam órgãos de armazenamento. Este processo consiste na obtenção de tubérculos em condições a partir de explantes nodais e/ou apicais (FIGURAS 3A; 3B e 3C) (Ovono *et al.*, 2010). A indução da microtuberização pode ser influenciada pelo uso de reguladores de crescimento, tipo de meio de cultivo, temperatura, fotoperíodo, pela fonte de carboidrato e pelo espectro de luz utilizado.



FIGURA 3 - Tuberização *in vitro* de inhame a partir de explantes nodais (A e B); microtubérculos (C). Fonte: arquivo pessoal

Os hormônios vegetais são reportados como substâncias que podem promover a indução da tuberização, assim como inibir este processo. Entre eles, as giberelinas têm sido associadas como regulador negativo da tuberização de batata, visto que o estímulo à sua produção inibe

este processo. O ácido abscísico pode ser considerado um hormônio promotor da tuberização em batata (Kerbaudy, 2019). Em *D. alata*, o ácido abscísico e o ácido naftalenoacético estimularam o crescimento de microtubérculos (John *et al.*, 1993).

As citocininas são importantes para o estímulo das divisões celulares, que constituem uma das primeiras alterações morfológicas do processo de tuberização. Sob condições favoráveis à indução de tuberização *in vitro*, a aplicação exógena de citocinina resultou na formação de tubérculos em plantas de batata (Kerbaudy, 2019).

O efeito de 6-benzilaminopurina (BAP), ácido 1-naftaleno-acético (ANA) e cinetina na formação de microtúberas de *D. deltoidea* foi avaliado por Nazir *et al.*, (2022). O BAP e cinetina permitiram a divisão celular, enquanto a auxina ANA regulou o crescimento vegetativo e de órgãos. O maior número de microtubérculos foi produzido em meio de cultivo contendo 0,9 mg.L⁻¹ de BAP.

O ácido jasmônico (JA) também parece estar relacionado ao processo de tuberização. Em plantas de *D. alata*, *D. rotundata* e *D. cayenensis*, cultivadas *in vitro*, a suplementação com JA favoreceu o processo de microtuberização (Jasik e Mantell, 2000). A melhoria da tuberização de espécies do gênero *Dioscorea* em meio suplementado com ácido jasmônico é provavelmente o resultado de modificações morfogenéticas que ocorrem durante os estágios iniciais da formação das microtúberas. Com uma semana de cultivo em meio suplementado com 10 µM de JA, a protuberância axilar, considerada como a primeira evidência morfológica da formação de microtúberas, tornou-se visível, enquanto que, quando cultivada em meio sem este hormônio, esta tornou-se visível após três semanas (Bazabakana *et al.*, 2003).

Além dos hormônios vegetais, outros fatores contribuem na regulação da tuberização, como a concentração de carboidratos. O aumento da fonte de carboidrato no meio de cultivo pode influenciar a indução da microtuberização em espécies do gênero *Dioscorea*. Em *D. nipponica*, a sacarose (7%) foi o constituinte do meio de cultivo que favoreceu significativamente o desenvolvimento da microtúbera (Chen *et al.*, 2007). Em *D. alata*, o maior número de microtúberas por explantes foi observado com o aumento da concentração de sacarose (6 e 8%) no meio de cultivo. A utilização de níveis de sacarose entre 6 e 8% retardaram o crescimento de brotos e aumentaram a formação de microtubérculos em explantes (Corria *et al.*, 2004).

As plantas absorvem vários espectros de luz através dos fotorreceptores e do sistema sensorial do fitocromo, que está presente nos órgãos fotossintéticos. A morfogênese e o crescimento de microtubérculos em batatas também são influenciados pelo comprimento de onda e duração da luz (Kerbaudy, 2019). O fotoperíodo desempenha um papel essencial na formação e crescimento de tubérculos em inhame. Dias longos promovem o desenvolvimento vegetativo da parte aérea, folhas e caules, enquanto dias curtos promovem a senescência das folhas e o aumento do volume do tubérculo (Lebot, 2009).

Os comprimentos de onda de cores diferentes têm um papel específico no crescimento e desenvolvimento das plantas. Os pigmentos absorvem luz numa faixa do espectro visível, entre 400 e 700 nm. A qualidade da luz pode estimular mudanças na morfologia e no desenvolvimento, que são detectados por fitocromos que podem otimizar respostas das plantas, por exemplo, à germinação de sementes, floração e tuberização (Rehman *et al.*, 2017).

Fitocromos são fotorreceptores que absorvem as luzes vermelha e vermelho-distante mais fortemente (600-750 nm), mas também absorvem a luz azul (350-500 nm). Todas as mudanças nas plantas reguladas por fitocromos iniciam com a absorção da luz pelo fotorreceptor. Após a absorção da luz, as propriedades moleculares do fitocromo são alteradas, afetando a interação da proteína do fitocromo com outros componentes celulares, o que provoca as mudanças no crescimento, no desenvolvimento ou na posição de um órgão (Taiz *et al.*, 2017).

A via de tuberização é regulada por receptores de luz vermelha, fitocromo A/B e receptor de luz azul, criptocromos (Kerbaudy, 2019). Os espectros de luz vermelha e azul foram reconhecidos como fatores de controle para indução e crescimento de microtubérculos em batata (Cope *et al.*, 2014). A combinação de 30% de luz LED vermelha + 70% azul diminuiu o

período de indução de tubérculos e aumentou significativamente o número e o rendimento de tubérculos em comparação à exposição ao escuro completo ou à luz branca. A luz vermelha foi relatada como afetando a síntese de açúcar solúvel e amido nas folhas (Li *et al.*, 2017) e a luz azul como indutora de açúcar e amido na tuberização de batata sob condições de crescimento *in vitro* (Li *et al.*, 2019).

Plantas de batata cultivadas em espectro vermelho produziram o maior número de tubérculos, de tamanho pequeno. A maior massa fresca e seca foi observada ao utilizar 65% de luz vermelha + 35% de luz azul e 35% de luz vermelha + 20 % de luz verde (Chen *et al.*, 2020). Isso torna a luz um dos principais sinais ambientais que determinam o rendimento dos tubérculos (Plantenga *et al.*, 2016).

2.4 Diversidade genética

Indivíduos de uma mesma espécie não são geneticamente idênticos, apresentando sequências de DNA que diferem e formam a diversidade genética de uma espécie (Ellegren e Galtier, 2016). Esta diversidade é uma fonte fundamental de biodiversidade (Hughes *et al.*, 2008) e é importante para a evolução e conservação das espécies (Ellegren e Galtier, 2016), além de constituir a base para a seleção e para o melhoramento genético de plantas (Rao e Hodgkin, 2002).

O conhecimento da diversidade genética em espécies vegetais tem se tornado importante para que ela possa ser conservada e utilizada. Também é importante para gerenciar o germoplasma conservado (Rao e Hodgkin, 2002). A diversidade é a base biológica para produção de alimentos e o seu conhecimento torna-se um meio para enfrentar desafios futuros nos sistemas de produção (Ramalho *et al.*, 2012).

No Brasil, os agricultores familiares têm sofrido com pressões econômicas, tais como o avanço de monocultivos e falta de investimentos dos setores públicos e privado, que provocaram uma redução das atividades agrícolas, levando a uma perda da diversidade genética das espécies de inhame (Siqueira, 2011). Neste sentido, há uma necessidade de estudos para verificar os danos causados por essas pressões para estimar a diversidade genética que é gerida por esses agricultores e desenvolver estratégias para a conservação e manutenção de variedades tradicionais, que são uma importante fonte de alelos para várias características agrônomicas desejáveis, tais como resistência a pragas e patógenos e tolerância aos fatores abióticos (Nascimento *et al.*, 2015).

A diversidade genética pode ser avaliada por meio de marcadores morfológicos e moleculares e vários parâmetros podem ser utilizados para estimar a diversidade existente, tais como similaridade e dissimilaridade genética, frequências alélicas, porcentagem de locus polimórficos, heterozigotidade observada e esperada, número de alelos observados por loco, número efetivo de alelos, diversidade genética de Nei e índice de Shannon.

2.4.1 Caracterização morfológica

Um marcador morfológico é um fenótipo de fácil identificação (Ramalho *et al.*, 2012). Este foi o primeiro tipo de marcador a ser utilizado e ainda hoje é empregado no melhoramento genético convencional (Turchetto-Zolet *et al.*, 2017). Nos estudos, normalmente são escolhidos descritores morfológicos e agrônomicos já estabelecidos para a cultura do inhame (Silva, 2012). Características como forma, tipo, cor, comprimento e largura de folha; comprimento do pecíolo; florescimento; número, comprimento, largura, cor e forma do tubérculo; hábito de crescimento e altura de planta são utilizadas em estudos de diversidade genética de espécies pertencentes ao gênero *Dioscorea* (Sonibare *et al.*, 2010; Nudin *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2019; Adewumi *et al.*, 2021).

Por meio da caracterização morfológica, foi possível dividir 100 acessos de *D. alata* em dois grupos distintos. No grupo 1, foram agrupados os acessos que possuíam raízes tuberosas longas, alto rendimento, apresentavam tolerância ao vírus do mosaico do inhame e a antracnose. No grupo 2, os acessos apresentaram raízes tuberosas pequenas, baixo rendimento e eram

suscetíveis ao vírus do mosaico do inhame e a antracnose (Agre *et al.*, 2019). Foi encontrada uma alta diversidade morfológica entre 142 variedades de *D. alata* utilizando 16 descritores morfológicos, tais como forma e cor da folha, cor do pecíolo, cor da polpa do tubérculo e floração, sendo considerados eficazes para distinguir as variedades (Wu *et al.*, 2019).

Os descritores morfológicos são muito utilizados, entretanto, podem apresentar problemas de baixa eficiência no diagnóstico de avaliação da variabilidade disponível (Silva *et al.*, 2013). Isso ocorre pois a variabilidade fenotípica encontrada em uma determinada espécie pode ser de duas origens: devido ao ambiente e devido a diferenças genéticas (Carneiro, 2013). Uma solução para este problema é a combinação da caracterização morfológica com a caracterização molecular, para melhor avaliar a diversidade genética existente (Agre *et al.*, 2021).

2.4.2 Caracterização Molecular

Os marcadores moleculares fornecem um alto número de informações ao longo do genoma, sendo utilizados para detectar e explorar o polimorfismo do DNA (Turchetto-Zolet *et al.*, 2017). Como desvantagem da sua utilização, pode-se citar o alto custo para executar as técnicas laboratoriais exigidas, quando comparados com marcadores bioquímicos e morfológicos (Ramalho *et al.*, 2012).

Estudos com marcadores moleculares foram realizados para caracterizar a diversidade genética de várias espécies de inhame. O marcador SSR (*Simple Sequence Repeat*) foi usado em estudo de diversidade genética de *D. cayenensis* (Loko *et al.*, 2017) e de nove espécies do gênero *Diocorea* (Padhan *et al.*, 2019). Já o RAPD (*Randomly amplified polymorphic DNA*) foi utilizado em estudo de diversidade genética de *D. alata* (Rao *et al.*, 2020). Os marcadores AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), RAPD e SSR foram utilizados para caracterização de germoplasma de *D. rotundata* (Mignouna *et al.*, 2002). A diversidade genética de *D. hispida* foi caracterizada utilizando o marcador ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) (Nudin *et al.*, 2017).

O marcador ISSR consiste na amplificação de segmentos de DNA localizados entre duas regiões microssatélites idênticas. Utiliza um único primer desenhado com base nas sequências repetidas dos microssatélites na extremidade 5' com alguns nucleotídeos extras na extremidade 3' (Turchetto-Zolet *et al.*, 2017). A técnica surgiu em função da dificuldade de gerar os primers específicos para amplificar os SSR (Guimarães *et al.*, 2009). A vantagem de utilização desse marcador é que seus primers são universais, possui alta reprodutibilidade, alto grau de polimorfismo e simplicidade, pois é baseado em PCR (Polymerase chain reaction). A desvantagem é que ele apresenta herança dominante e as várias bandas derivadas de um primer podem ser oriundas de diferentes locos, dificultando o seu uso nos trabalhos de mapeamento (Turchetto-Zolet *et al.*, 2017).

O marcador SSR consiste em repetições de sequências de dois a seis nucleotídeos, ocupando uma extensão de até 100 pares de bases. É um marcador multialélico e codominante, fornecendo um elevado nível de informação genética por loco; possui alta reprodutibilidade, loco-específico e simplicidade (baseado em PCR). Porém, necessita de biblioteca genômica, de isolamento e desenvolvimento de primers específicos para cada espécie (Turchetto-Zolet *et al.*, 2017).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHAM, K.; NEMORIN, A.; LEBOT, V.; ARNAU, G. Meiosis and sexual fertility of autotetraploid clones of greater yam *Dioscorea alata* L. **Genetic Resource Crop Evolution**, v. 60, p. 819-823, 2013.
- ADEWUMI, A. S.; ASARE, P. A.; ADU, M. O.; TAAH, K. J.; AKABA, S.; MONDO, J. M.; AGRE, P. A. Farmers's perceptions on varietal diversity, trit preferences and diversity management of bush yam (*Dioscorea praeheensis* Benth.) in Ghana. **Scientific African**, v. 12, 2021.
- AGELE, S. O.; AYANKANMI, T. G.; KIKUNO, H. Effects of synthetic hormone substitutes and genotypes on rooting and mini tuber production of vines cuttings obtained from white yam (*Dioscorea rotundata* Poir). **African Journal of Biotechnology**, v. 9, p. 4714-4724, 2010.
- AGRE, P.; ASIBE, F.; DARKWA, K. EDEMODOU, A.; BAUCHET, G.; ASIEDU, R. ADEBOLA, P.; ASFAW, A. Phenotypic and molecular assessment of genetic structure and diversity in a panel of winged yam (*Dioscorea alata*) clones and cultivars. **Scientific Report**, v. 9, 2019.
- AGRE, P. A.; DASSOU, A. G.; LOKO, L. E. Y.; IDOSSOU, R.; DADONUGBO, E.; GBAGUIDI, A.; MONDO, J. M.; MUYIDEEN, Y.; ADEBOLA, P. O.; ASIEDU, R.; DANSI, A. A.; ASFAW, A. Diversity of white Guinea yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) cultivars from Benin as revealed by agro-morphological traits and SNP markers. **Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization**, v. 19, p. 437-446, 2021.
- ANDRES, C.; ADEOLUWA, O. O.; BHULLAR, G. S. **Yam (*Dioscorea* spp.)**. Encyclopedia of Applied Plant Sciences, p. 435–441, 2017.
- BAZABAKANA, R.; WATTIEZ, R.; BAUCHER, M.; DIALLO, B.; JAZIRI, M. Effect of jasmonic acid on developmental morphology during *in vitro* tuberization of *Dioscorea alata* (L.). **Plant Growth Regulation**, v. 40, p. 229-237, 2003.
- BORGES GARCÍA, M.; R. GÓMEZ-KOSKY, E.; ESTRADA ABEAL, D.; REYES AVALOS, B.; MALAURIE, e DESTRA DA BATISTA, R. Respuesta en campo de plantas *in vitro* de *Dioscorea alata* L. clon 'Caraqueño' en distintos momentos de plantación. **Biotechnologia Vegetal**, v. 15, p. 137-142, 2015.
- BORGES GARCÍA, M.; REYES-AVALOS, D. M.; LYVA-DOMÍNGUEZ, ÁVILA-MEDINA, U.; LAMBERT-GARCÍA, T. Producción de ñame clon Criollo a partir de bulbillos aéreos. **Agronomía Mesoamericana**, v. 29, n. 1, p. 75-84, 2018.
- CARNEIRO, J. L. dos S. **Caracterização morfológica e molecular de germoplasma de inhame**. 2013. 117 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas-BA, 2013.
- CARVALHO, P. C. L. de.; TEIXEIRA, C. A.; BORGES, A. de J. Diversidade Genética em *Dioscorea* spp. no Recôncavo da Bahia. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 515-519, 2009.

CHEN, F. Q.; FU, Y.; WANG, D. L.; GAO, X.; WANG, L. The effect of plant growth regulators and sucrose on the micropropagation and microtuberization of *Dioscorea nipponica* Makino. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 26, p. 38-45, 2007.

CHEN, Y.; TANG, Y. M.; YU, S. L.; HAN, Y. W.; KOU, J. P.; LIU, B. L.; YU, B. Y. Advances in the pharmacological activities and mechanisms of diosgenin. **Chinese Journal Natural Medicine**, v.13, p.578–587, 2015.

CHEN, L. L.; ZHANG, K.; GONG, X. C.; WANG, H. Y.; GAO, Y. H.; WANG, X. Q.; ZENG, Z. H.; HU, Y. G. Effects of different LEDs light spectrum on the growth, leaf anatomy, and chloroplast ultrastructure of potato plantlets *in vitro* and minituber production after transplanting in the greenhouse. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 19, n. 1, p. 105-119, 2020.

COPATTI, A. S., LOY, F. S., CRUZ, J. G., SCHWARTZ, C. D.; MELLO-FARIAS, P. C. Reguladores vegetais na multiplicação *in vitro* de Tamarilo *Solanum betaceum*. **Revista da Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa**, p. 1064-1074, 2016.

COPE, K. R.; SNOWDEN, M. C.; BUGBEE, B. Photobiological interactions of blue light and photosynthetic photon flux: effects of monochromatic and broadspectrum light sources. **Photochemistry and Photobiology**, v. 90, p. 574-584, 2014.

CORRIA, M. G.; ESCALONA, M.; MENESES, S. Efecto de la concentración de sacarosa y de reguladores del crecimiento em la tuberización *in vitro* de *Dioscorea alata* L. variedad Cartagena. **Biotecnologia Vegetal**, v. 4, n. 4, p. 243-246, 2004.

DARKWA, K.; OLASANMI, B.; ASIEDU, R.; ASFAW, A. Review of empirical and emerging breeding methods and tools for yam (*Dioscorea* spp.) improvement: status and prospects. **Plant Breeding**, v. 139, p. 474-497, 2020.

ELLEGREN, H.; GALTIER, N. Determinants of genetic diversity. **Nature Reviews**, v. 17, p. 422-433, 2016.

FAO. FAOSTAT. Disponível em:< <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> >. Acesso em 20 agosto 2023.

FERREIRA, A. B. **Sistemas de cultivo do cará dioscorea spp. por pequenos agricultores da Baixada Cuiabana – MT**. 2011. 106 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, 2011.

GIRMA, G.; NATSUME, S.; CARLUCCIO, A. V.; TAKAGI, H.; MATSUMURA, H.; UEMURA, A.; MURANAKA, S.; STAVOLONE, L.; GEDIL, M.; SPILLANE, C.; TERAUCHI, R.; TAMIRU, M. Identification of candidate flowering and sex genes in white Guinea yam (*D. rotundata* Poir.) by SuperSAGE transcriptome profiling. **Plos One**, v. 14, n. 9, 2019.

GUIMARÃES, C. T.; MAGALHÕES, J. V.; LANZA, M. A.; SCHUSTER, I. Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento genético. **Informe Agropecuário**, v. 30, n. 253, 2009.

HUGHES, A. R.; INOUE, B. D.; JOHNSON, M. T.; MARK VALLEND, N. U. Ecological consequences of genetic diversity. **Ecology Letters**, v. 11, p. 609-623, 2008.

JASIK, J.; MANTELL, S. H. Effects of jasmonic acid and its methylester on *in vitro* microtuberisation of three food yam (*Dioscorea*) species. **Plant Cell Reports**, v. 19, p. 863-867, 2000.

JOHN, J. L.; COURTNEY, W. H.; DECOTEAU, D. R. The influence of plant growth regulators and light on microtuber induction and formation in *Dioscorea alata* L. cultures. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 34, p. 245-252, 1993.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. 3ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. 430p.

LEBOT, V. **Tropical root and tuber crops: cassava, sweet potato, yams, aroids**. London: Cabi, 2009. 413p.

LI, C. X.; XU, Z. G.; DONG, R. Q.; CHANG, S. X.; WANG, L. Z.; TAO, J. M. An RNA-seq analysis of grape plantlets grown *in vitro* reveals different responses to blue, green, red LED light, and white fluorescent light. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 78, 2017.

LI, R.; LONG, J.; YAN, Y.; LUO, J.; XU, Z.; LIU, X. Addition of white light to monochromatic red and blue lights alters the formation, growth, and dormancy of *in vitro*-growth *Solanum tuberosum* L. microtubers. **HortScience**, v. 19, p. 45-49, 2019.

LOKO, Y. L.; BHATTACHARJEE, R.; AGRE, P.; DOSSOU-AMINON, I.; OROBIYI, A.; DJEDATIN, G. L. DANSI, A. Genetic diversity and relationship of Guinea yam (*Dioscorea cayenensis* Lam. - *D. rotundata* Poir. complex) germplasm in Benin (West Africa) using microsatellite markers. **Genetic Resource Crop Evolution**, v. 6, p. 1205-1219, 2017.

MENDES, L. N.; SILVA, J. A.; FAVERO, L. A. Panorama da produção e comercialização do inhame no mundo e no Brasil e sua importância para o mercado pernambucano: uma análise das cinco forças competitivas. In: Convibra Business - Congresso Online de Administração, X. **Anais eletrônicos**, 2013.

MIGNOUNA, H.; MANK, R.; ELLIS, T.; BOSCH, N. V. D.; ASIEDU, R.; PELEMAN, J. A genetic linkage map of Guinea yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) based on AFLP markers. **Theor Appl Genetic**, v. 105, p. 716-725, 2002.

MONDO, J. M.; AGRE, P. A.; EDEMODOU, A.; ADEBOLA, P.; ASIEDU, R.; AKORODA, M. O.; ASFAW, A. Floral biology and pollination efficiency in yam (*Dioscorea* spp.). **Agriculture**, v. 10, 2020.

MONFORT, L. E. F.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; ROSSI, Z. T. T.; SANTOS, F. M. Efeito do BAP no cultivo *in vitro* de *Ocimum selloi* Benth. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, n. 3, p. 458-463, 2012.

MONTEIRO, D. A.; PERESSIN, V. A. **Cultura do inhame**. In: CEREDA, M. P. (Coord.). **Agricultura: tuberosas amiláceas Latino-Americanas**. São Paulo: Fundação Cargil, 2002. p.511-522.

NASCIMENTO, W. F.; SIQUEIRA, M. V. B. M.; FERREIRA, A. B.; MING, L. C.; PERONI, N.; VEASEY, E. A. Distribution, management and diversity of the endangered Amerindian yam (*Dioscorea trifida* L.). **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, n. 1, p. 104-115, 2015.

NAZIR, R.; GUPTA, S.; DEY, A.; KUMAR, V.; GUPTA, A. P.; SHEKHANWAT, M. S.; GOYAL, P.; PANDEY, D. K. *In vitro* tuberization, genetic, and phytochemical fidelity assessment of *Dioscorea deltoideia*. **Industrial Crops e Products**, v. 175, 2022.

NORMAN, P.E.; PATERNE, A.A.; DANQUAH, A.; TONGOONA, P.B.; DANQUAH, E.Y.; KOEYER, D.D.; IKEOGU, U.N.; ASIEDU, R.; ASFAW, A. Paternity assignment in White guinea yam (*Dioscorea rotundata*) half-sib progenies from polycross mating design using SNP markers. **Plants**, v. 9, 2020.

NUDIN, N.F.H.; ALI, A.M.; NGAH, N.; MAZLAN, N.Z.; MAT, N.; GHANI, M.N.A.; ALIAS, N.; ZAKARIA, A. J.; JAHAN, M.S. ISSR marker-assisted genetic diversity analysis of *Dioscorea hispida* and selection of the best variety for sustainable production. **Comptes Rendus Biologies**, v. 340, p. 359-366, 2017.

OLIVEIRA, A. N. P.; OLIVEIRA, F. A.; SOUSA, L. C.; OLIVEIRA, A. P.; SILVA, J. A.; SILVA, D. F.; SILVA, N. V.; SANTOS, R. R. Adubação fosfatada em inhame em duas épocas de colheita. **Horticultura Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 456-460, 2011.

OLIVEIRA, A. N. P.; SILVA, D. F.; SILVA, J. A.; OLIVEIRA, A. N. P.; SANTOS, R. R.; SILVA, N. V.; OLIVEIRA, F. J. M. Tecnologia alternativa para produção de túberas-semente de inhame e seus reflexos na produtividade. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 553-556, 2012.

OLIVEIRA, A. P. de; BANDEIRA, N. V. da S.; DANTAS, D. F. da S.; SILVA, J. A. da; DANTAS, T. A. G. Produtividade máxima e econômica do inhame em função de doses de potássio. **Revista Caatinga**, v. 26, n. 3, p. 110-1156, 2013.

OVONO, P. O., KEVERS, C., DOMMES, J. Effects of storage conditions on sprouting of microtubers of yam (*Dioscorea cayenensis*–*D. rotundata* complex). **Comptes Rendus Biologies**, p. 28–34, 2010.

PADHAN, B.; MUKHERJEE, A.; MOHANTY, S. K.; LENKA, S. K.; PANDA, D. Genetic variability and inter species relationship between wild and cultivated yams (*Dioscorea* spp.) from Koraput, India based on molecular and morphological markers. **Physiology and Molecular Biology Plants**, v. 25, n. 5, p. 1225-1233, 2019.

PAUL, C.; DEBNATH, B. A report on new chromosome number of three *Dioscorea* species. **Plant Science Today**, v. 6, n. 2, p. 147-150, 2019.

PEDRALLI, G. Dioscoreaceae e Araceae: Aspectos Taxonômicos, Etnobotânicos e Espécies Nativas com Potencial para Melhoramento Genético. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DO INHAME E DO TARO, 2002, João Pessoa. **Resumos...** João Pessoa: EMEBA, 2002. p. 37-53.

PEIXOTO NETO, P. A. de S.; LOPES FILHO, J.; CAETANO, L. C.; ALENCAR, L. M. C. DE; LEMOS, E. E. P. de. **Inhame – O nordeste fértil**. Maceió: Editora UFAL, 2000. 88p.

PLANTENGA, F. D. M.; SIAKOU, M.; BERGONZI, S.; HEUVELINK, E.; BACHEM, C. W. B.; VISSER, R. G. F.; MARCELIS, L. F. M. Regulating flower and tuber formation in potato with light spectrum and day length. **Acta Horticulturae**, v. 1134, p.267-275, 2016.

RAINA, A. P.; MISRA, R. C. Evaluation of diosgenin, a bioactive compound from natural source of *Dioscorea* species: a wild edible tuber plant. **Journal Pharmacognosy Phytochemical**, v. 9, p. 1120–1124, 2020.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P.; SOUZA, E. A.; GONÇALVES, F. M. A.; SOUZA, J. C. **Genética na agropecuária**. 5ª edição. Lavras: Editora UFLA, 2012. 566p.

RAO, V. R.; HODGKIN, T. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 68, p. 1-19, 2002.

RAO, G. K.; KAPADIA, C.; PATEL, N. B.; DESAI, K. D.; MURTHY, P. N. N. Genetic diversity analysis of greater yam (*Dioscorea alata* L.) genotypes through RAPD and ISSR markers. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 23, 2020.

REHMAN, M.; ULLAH, S.; BAO, Y.; WANG, B.; PENG, D.; LIU, M. Light-emitting diodes: whether na efficient source of light for indoor plants? **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, 2017.

SANTOS, E. S. dos; FONTINELLI, I. S. C.; LACERDA, J. T. de; MATIAS, E. C.; BARBOSA, M.M. Sistema alternativo de produção de sementes de inhame (*Dioscorea* sp). **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 1, n. 2, p. 19-24, 2007.

SANTOS, E. S; MACÊDO, L. S. Tendências e Perspectivas da Cultura do Inhame (*Dioscorea* sp.) no Nordeste do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DE INHAME E DO TARO, 2, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: EMEPA-PB, 2002. Disponível em http://www.emepa.org.br/revista/volumes/tca_v1_n2/tca03_inhame_sementes.pdf. Acesso em 26/06/2019

SANTOS, C. A.; SÁ, H. C. M.; MOREIRA, M. A. Análise do custo de produção e sensibilidade econômica e financeira na cultura de inhame (*Dioscorea* sp.) no município de Malhador-SE. **Empreendedorismo, Gestão e Negócios**, v. 10, n. 10. p. 432-443, 2021.

SANTOS, C. A.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; GOIS, I. B.; COSTA, A. S.; OLIVEIRA, S. D. S.; BLANK, A. F. Minituber production in yam for alternative vegetative propagation: types of cuttings, substrates, and anatomy. **Ciência Rural**, v. 53, n. 11, 2023.

SEMWAL, P., PAINULI, S., CRUZ-MARTINS, N. *Dioscorea deltoidea* wall. Ex Griseb: A review of traditional uses, bioactive compounds and biological activities. **Food Bioscience**, v. 41, 2021.

SHARIF, B. M.; BURGARELLA, C.; CORMIER F.; MOURNET, P.; CAUSSE, S.; VAN, K. N.; KAOH, H.; RAJAONAH, M. T.; LAKSHAN, S. R.; WAKI, J.; BHATTACHARJEE, R.; BADARA, G.; PACHAKKIL, B.; ARNAU, G.; CHAIR, H. Genome-wide genotyping elucidates the geographical diversification and dispersal of the polyploid and clonally propagated yam (*Dioscorea alata*). **Annals of Botany**, v. 126, p. 1029-1038, 2020.

SILVA, D. A. **Novas opções tecnológicas para o cultivo do inhame (*Dioscorea* sp) no nordeste do Brasil**. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DE INHAME E DO TARO, 2, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: EMEPA-PB. 2002. p.80-81.

SILVA, L. R. G. **Desenvolvimento de marcadores microssatélites e caracterização genética de etnovariedades de inhame do complexo *Dioscorea cayenensis*/*D. rotundata***. 2012. 79 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 2012.

SILVA, L. R. G.; BAJAY, M. M.; MONTEIRO, M.; MEZETTE, T. F.; PINHEIRO, J. B.; VEASEY, E. A. Isolation and characterization of microsatellites for an importante tuber crop (*Dioscorea cayenensis*) and cross-amplification in *D. rotundata* (Dioscoreaceae). **Genetics and Molecular Research**, 2013.

SILVA, L. E. R.; TRINDADE, R. C. P.; LEMOS, E. E. P. Enraizamento de estacas de inhame (*Dioscorea* spp.). **Comunicata Scientiae**, v. 5, p. 486-492, 2014.

SILVA, T. L.; PEREIRA, M. A. A.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Propagação *in vitro* de sacaca (*Croton cajucara* Benth.): entendimentos sobre a dificuldade no desenvolvimento de protocolos de Micropropagação da espécie. **Biotemas**, v. 28, n. 4, p. 41-50, 2015.

SILVA, J. P. G. dos S.; COSTA, T. P. D.; COSTA, M. K. C.; ARAÚJO, M. R. S. de; ARAÚJO, K. S.; SILVA, A. C. M. da; OLIVEIRA, P. C. de; SIA, E. de F. Efeito da citocinina 6-benzilaminopurina (BAP) sobre o estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais de *Rosa* sp. **Revista Agroecossistemas**, v. 9, n. 2, p. 370-80, 2017.

SIQUEIRA, M. V. B. M. Yam: A neglected and underutilized crop in Brazil. **Horticultura Brasileira**, v. 29, p. 16-20, 2011.

SONIBARE, M. A.; ASIEDU, R.; ALBACH, D. C. Genetic diversity of *Dioscorea dumetorum* (Kunth) Pax using Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP) and cpDNA. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, p. 320-334, 2010.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas do Brasil, baseado em APG III**. 3ª edição. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012.768p.

SUPRIYA DAS, M. D. C.; PRANAB, B. M. Micropropagation of *Dioscorea alata* L. through nodal segments. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, p. 6611–6617, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2017.858p.

TESSON, R. **La culture des tubercules dansla mata atlantica: analyse des stratégies de production de l’ignameaunord-Estdu Brésil**. France: CNEARC/CIRAD, 2004. 132p.

TURCHETTO-ZOLET, A. C.; TURCHETTO, C.; ZANELLA, C. M.; PASSAIA, G. **Marcadores moleculares na era genômica: Metodologias e aplicações**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2017. 181p.

UYOH, E. A.; ITA, E. E.; ESSIEN, M.; EWONA, E. A. F.; BINANG, M. Effect of synthetic hormone substitutes on rooting of vine cuttings in water yam (*Dioscorea alata* L.). **American Journal of Plant Sciences**, v. 7, p. 1372-1379, 2016.

WANG, G.; WU, X.; LI, Q. A bibliometric study of news discourse analysis (1988-2020). **Discour. Commun**, v. 16, p. 110-128, 2022.

WU, W.; CHEN, C.; ZHANG, Q.; AHMED, J. Z.; XU, Y.; HUANG, X.; XIE, J. XIA, W.; HUANG, D. A comparative assessment of diversity of greater yam (*Dioscorea alata*) in China. **Scientia Horticulturae**, v. 243, p. 116-124, 2019.

YAN, H.; YANG, L.; LI, Y. Improved growth and quality of *Dioscorea fordii* Prain et Burk and *Dioscorea alata* plantlets using temporary immersion system. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, 2011.

4. ARTIGO 1

PROPAGAÇÃO E ANÁLISE MOLECULAR EM *DIOSCOREA*: UMA REVISÃO BIBLIOMÉTRICA

Artigo formatado de acordo com as normas do periódico South African Journal of Botany (Submetido)

RESUMO

As espécies do gênero *Dioscorea* destacam-se pelo seu valor nutritivo e pela produção de compostos bioativos que são utilizados pela indústria farmacêutica. O presente estudo buscou compreender o estado da arte na área de propagação e caracterização molecular do gênero *Dioscorea* com base na análise bibliométrica. A bibliometria foi a ferramenta metodológica básica utilizada e os dados foram prospectados nas bases Scopus® e Web of Science™. Foram analisadas 69 publicações sobre propagação do gênero *Dioscorea*. A média de publicação por ano foi de 4,69, com maior número de publicações observadas no ano de 2011 e a taxa de crescimento anual de 4,25%. Os temas mais desenvolvidos foram aqueles relacionados à propagação por meio do cultivo *in vitro*. Foram analisadas 44 publicações sobre caracterização molecular do gênero *Dioscorea*. A média de publicação foi de 5,37, com maior número de publicações observadas no ano de 2017 e taxa de crescimento anual de 7,11%. Os temas mais importantes estavam relacionados à diversidade e estrutura genética de espécies do gênero. Esta revisão mapeia os estudos existentes e identifica lacunas no campo de pesquisa sobre a propagação e caracterização molecular de espécies do gênero *Dioscorea*.

Palavras-chave: Cultura de tecidos, diversidade genética, germoplasma, Bibliometrix.

ABSTRACT

Species of the genus *Dioscorea* stand out for their nutritional value, being used in food or to produce bioactive compounds that are used by the pharmaceutical industry. The present study sought to understand the state of the art in propagation and molecular characterization of the genus *Dioscorea*, based on bibliometric analysis. Bibliometrics was the basic methodological tool used and the data was searched in the Scopus® and Web of Science™ databases. 69 publications on the propagation of the genus *Dioscorea* were analyzed. The average number of publications per year was 4.69, with the highest number of publications observed in 2011 and an annual growth rate of 4.25%. The most developed themes were those related to propagation through *in vitro* cultivation. 44 publications on molecular characterization of the genus *Dioscorea* were analyzed. The publication average was 5.37, with the highest number of publications observed in 2017 and an annual growth rate of 7.11%. The most important topics were related to the diversity and genetic structure of species in the genus. This review maps existing studies and identifies gaps in the field of research on the propagation and molecular characterization of species of the genus *Dioscorea*.

Keywords: Tissue culture, genetic diversity, germplasm, Bibliometrix.

4.1. Introdução

O gênero *Dioscorea*, pertencente à família Dioscoreaceae, que inclui mais de 600 espécies de inhame, muitas selvagens, apresentando diferentes finalidades (Souza e Lorenzi, 2012). É cultivado principalmente na África Ocidental e na Ásia, distribuído na África, América do Sul, Caribe e nas ilhas do Pacífico Sul (Andres et al., 2017). A produção mundial do gênero é de 72,6 milhões de toneladas, com destaque para os países da África Ocidental, sendo que Nigéria, Gana e Costa do Marfim detêm 86% da produção mundial (FAO, 2020).

A cultura apresenta importância para a segurança alimentar e para geração de renda de diferentes países da África Ocidental (Asiedu e Sartie, 2010), e é uma fonte de minerais, carboidratos de baixo índice glicêmico, vitaminas e fibras (Akinola et al., 2019). Além disso, algumas espécies do gênero *Dioscorea* possuem compostos bioativos que são utilizados na medicina tradicional contra uma série de doenças (Semwal et al., 2021). Um exemplo é a diosgenina, que é extraída de tubérculos de *Dioscorea deltoidea*, *Dioscorea composite* e *Dioscorea floribunda*, e apresenta importância comercial devido à sua utilização na fabricação de hormônios sexuais, contraceptivos orais e outras drogas esteróides importantes (Raina e Misra, 2020).

A propagação desta cultura é feita convencionalmente por meio de tubérculos-semente, que podem ser plantados inteiros ou seccionados em pedaços menores (Andres et al., 2017). Esse meio de propagação apresenta uma baixa taxa de multiplicação, problemas fitossanitários (Borges-García et al., 2018) e alto custo de aquisição do tubérculo-semente (Andres et al., 2017). Desta forma, existe a necessidade de se buscar métodos alternativos para a propagação da cultura do inhame visando solucionar os problemas advindos da baixa disponibilidade de material propagativo, principalmente em escala comercial (Aighewi et al., 2021).

Pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de buscar alternativas para a melhoria do sistema de produção de inhame, como a produção de túberas-semente por meio de sistema adensado (Oliveira et al., 2012), uso de diferentes reguladores de crescimento para a quebra da dormência de tubérculos-semente (Hamadina e Craufurd, 2015), cultivo *in vitro* (Yan et al., 2011; Das et al., 2013; Borges-García et al., 2015) e enraizamento de estacas caulinares (Agele et al., 2010; Silva et al., 2014; Uyoh et al., 2016; Santos et al., 2023).

As espécies do gênero *Dioscorea* são classificadas como dióicas e apresentam pouca produção de flores, o que acarreta em uma recombinação gênica limitada (Wu et al., 2019) e, consequentemente, na adoção predominante da propagação vegetativa. Dessa forma, a caracterização molecular surge como uma ferramenta importante para o manejo e conservação para o desenvolvimento de novas variedades de *Dioscorea* (Owiti et al., 2023), que pode ser feita utilizando diferentes marcadores moleculares (Massawe e Temu, 2023). Como exemplo, para a caracterização genética de *D. cayenensis* (Loko et al., 2017) e de nove espécies do gênero *Diocorea* (Padhan et al., 2019), foram utilizados os marcadores SSR (Simple Sequence Repeat); os marcadores RAPD (Randomly amplified polymorphic) para a caracterização de *D. alata* (Rao et al., 2020); os marcadores AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), RAPD e SSR para a caracterização de germoplasma de *D. rotundata* (Mignouna et al., 2002); e os ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) para a caracterização de *D. hispida* (Nudin et al., 2017).

Diante do exposto, é importante mapear os estudos existentes dentro das temáticas de propagação e caracterização molecular das espécies do gênero *Dioscorea*, com o objetivo de identificar possíveis lacunas nestes campos de pesquisa.

A análise bibliométrica permite a identificação de indicadores confiáveis para a avaliação da produção científica de um campo específico (Wang et al., 2022). Para isso, são obtidos um conjunto de metadados científicos, que são utilizados como fontes das informações científicas e submetidos a ferramentas (software) de análise de dados (Vasconcelos, 2014). Assim, este estudo buscou compreender a estrutura das pesquisas publicadas na área de propagação e caracterização molecular do gênero *Dioscorea*, com base na análise bibliométrica. Foram abordadas as seguintes questões: 1 – Quais autores, periódicos, países e afiliações são mais produtivos em cada tema; 2 – Quais são os temas mais desenvolvidos e importantes em cada campo da pesquisa.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Prospecção científica

Os dados utilizados no presente estudo foram prospectados nas bases científicas Scopus® e Web of Science™. O Scopus® é um dos produtos disponibilizados pela Elsevier, que oferece maior cobertura de dados interdisciplinares de resumos e citações. Abrange mais de 87 milhões de documentos e mais de 1,8 bilhões de referências citadas (Elsevier, 2023). O Web of Science™ é um produto da Clarivate, que oferece mais de 1,7 milhões de registros, em mais de 254 categorias de ciências, ciências sociais, artes e humanidade (Clarivate, 2023).

4.2.2. Propagação do gênero *Dioscorea*

O levantamento bibliográfico foi realizado em novembro de 2022 com os termos “*Dioscorea*” e “propagation”, os quais foram prospectados no título, resumo e palavras-chave dos artigos científicos no Scopus¹ e no Web of Science². Os critérios de inclusão foram: ano de publicação entre 2000 e 2022 e artigos que continham ambos os termos prospectados no título, resumo e/ou palavras-chave. Os critérios de exclusão foram ano de publicação anterior a 2000 e publicações fora do tema (Figura 1).

4.2.3. Caracterização molecular do gênero *Dioscorea*

O levantamento bibliográfico foi realizado em maio de 2023, com os termos “*Dioscorea*” e “molecular markers”, prospectados no título, resumo e palavras-chave dos artigos científicos no Scopus³ e no Web of Science⁴. Os critérios de inclusão foram: ano de publicação entre 2000 e 2023 e artigos que continham ambos os termos prospectados no título, resumo e/ou palavras-chave. Os critérios de exclusão foram ano de publicação anterior a 2000 e publicações fora do tema (Figura 2).

4.2.4. Análise dos dados

Os dados de cada base foram exportados no formato BibTex e, com o auxílio do pacote bibliometrix (Aria e Cuccurullo, 2017) para R, combinados como um único conjunto de dados após remoção dos arquivos duplicados, o qual foi utilizado para a realização das análises descritas a seguir. As análises foram realizadas de forma independente para os dois temas propostos, “propagação” e “caracterização molecular” do gênero *Dioscorea*.

A avaliação da produção científica foi realizada por meio do número de artigos sobre os temas, ano de publicação, média de publicação por ano, taxa de crescimento e periódicos que mais publicaram sobre os temas.

A análise da qualidade das publicações foi realizada utilizando os indicadores bibliométricos: total de publicações, total de citações recebidas e total de citações por ano. Finalmente, a contribuição dos autores foi avaliada pelos indicadores: número de autores, colaboração dos autores e autores mais produtivos.

Os países e as afiliações que mais contribuíram com publicações sobre os temas foram identificados e a estrutura social foi avaliada pelo mapa mundial de colaborações, para o qual foi considerado pelo menos uma colaboração entre autores de diferentes países. A estrutura conceitual foi avaliada por meio de mapeamento temático, que permite a visualização de quatro

¹ TITLE-ABS-KEY (dioscorea) e TITLE-ABS-KEY (propagation), PUBYEAR > 1999 e PUBYEAR < 2023.

² <https://www.webofscience.com/wos/woscc/summary/ccb608c1-e3fa-4a2a-ae7d-9d5da24c437b-60473da3/relevance/1>

³ <https://www.scopus.com/results/results.uri?sort=plf-f&src=s&st1=Dioscorea&st2=Molecular+markers&sid=1266355f32408d1b010f25d0fd86e314&sot=b&sdt=cl&sl=63&s=%28TITLE-ABS-KEY%28Dioscorea%29+AND+TITLE-ABS-KEY%28Molecular+markers%29%29&origin=resultslist&editSaveSearch=&yearFrom=2000&yearTo=2023&sessionSearchId=1266355f32408d1b010f25d0fd86e314&limit=10&cluster=scosubtype%2C%22ar%22%2Ct>

⁴ <https://www.webofscience.com/wos/woscc/summary/5fc08976-d39a-4407-8148-8736a1d1b2e3-b31ea01a/date-descending/1>

tipos diferentes de temas com base na densidade e centralidade. As análises supracitadas foram realizadas com o auxílio do pacote bibliometrix (Aria e Cuccurullo, 2017) para R (R Core Team, 2022).

4.3. Resultados

4.3.1. Prospecção científica sobre os métodos de propagação do gênero *Dioscorea*

Para os termos de busca utilizados, foram obtidos 160 artigos nas bases de dados Web of Science (72) e Scopus (88). Destes, 24 (Web of Science) e 37 (Scopus) não se enquadravam no objetivo da pesquisa. Foram excluídos 30 artigos duplicados, restando um total de 69 artigos publicados entre 2000 e 2022. As publicações sobre propagação do gênero *Dioscorea* apresentaram uma média de publicação por ano de 4,69. O maior número de publicações ocorreu no ano de 2011, com um total de 10 artigos científicos. A taxa de crescimento anual foi de 4,25%. O total de citações recebidas foi de 7,087 e o total de citação anual foi de 0,9385.

Os artigos foram publicados em 53 periódicos. Os três periódicos que apresentaram maior número de documentos sobre o tema da pesquisa foram Plant Cell Tissue and Organ Culture, South African Journal of Botany e Chinese Traditional and Herbal Drugs, com 7, 4 e 3 artigos publicados, respectivamente.

Os artigos foram escritos por 251 autores, com autoria múltipla observada em 94,2 % dos artigos. Com relação à colaboração dos autores, houve em média 4 autores por artigo e 4,13 coautores por artigo. Os autores mais produtivos foram Hong S (4 artigos), Yin M (4), Asiedu R (3), Cabrera JM (3), Dey A (3), Kumar A (3), Adeniran A (2), Aighewi B (2), Balogun M (2) e Behera K (2).

A Índia, com 12 artigos, foi o país que mais contribuiu com publicações sobre propagação do gênero *Dioscorea*, seguido pela Nigéria (9 artigos), China (8), Cuba (5), Brasil (4), França (4), Japão (3), Reino Unido (3), Estados Unidos (3) e Coréia (2). A Índia também foi o país que mais fez colaborações (5).

As afiliações mais produtivas foram: International Institute of Tropical Agriculture (14 artigos), Lovely Professional University (7), University of Ibadan (5), Chaudhary Charan Singh Haryana Agricultural University (4), Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (4), Penn State University (4), Presidency University (4), University of Reading (4), CSIR – Indian Institute of Integrative Medicine (3), e Jiwaji University (3). Das dez afiliações supracitadas, cinco estão localizadas na Índia, duas na Nigéria, uma em Cuba, uma nos Estados Unidos e uma no Reino Unido.

As palavras-chave utilizadas pelos autores que apareceram com maior frequência foram micropropagação (10 artigos), inhame (7), *Dioscorea* (6), diosgenina (6), *Dioscorea alata* (5), *Dioscorea rotundata* (5), propagação *in vitro* (5), regeneração (5), cultura de tecidos (5) e propagação (4). Foram identificados oito grupos distintos de coocorrência de palavras-chave (Figura 3). O grupo vermelho foi composto pelas palavras micropropagação, regeneração e inhame; o grupo verde por *Dioscorea*, propagação *in vitro* e ozônio; o grupo rosa por bulbo adventício, calos e *Dioscorea zingiberensis*; o grupo roxo por diosgenina, fidelidade genética e hptlc – High Performance Thin Layer Chromatography; o grupo cinza por cultura de tecidos, segmento nodal e regeneração de parte aérea; o grupo azul por semente de inhame e *Dioscorea rotundata*; o grupo laranja por tubérculo e propagação e o grupo marrom por microtubérculo e nodal.

Nos estudos com propagação do gênero *Dioscorea*, os temas mais desenvolvidos na literatura (temas motores – quadrante superior direito) (Figura 4) foram: 1 – temas relacionados ao cultivo *in vitro*; 2 – planta (rápida multiplicação de plantas; regulador de crescimento de plantas; planta medicinal; propagação de planta) e 3 – propagação, relacionadas às diferentes formas de propagação da cultura.

Os temas especializados e de caráter periférico (quadrante superior esquerdo) (Figura 4) formaram três grupos: 1 – cultura de tecidos, técnicas para multiplicação em escala comercial

da cultura; 2 - agente gelificante, termo relacionado à avaliação de amido de mandioca como agente gelificante do meio de cultivo (Nkere et al., 2011); 3 – a espécie *Dioscorea alata*, com pesquisas relacionadas ao tipo de explantes e uso de reguladores de crescimento (Shah and Lele, 2012), sistema de cultivo (Jova et al., 2011a), avaliação da fidelidade genética, uso de marcadores moleculares (Marin et al., 2012) e manejo de tubérculos-semente no plantio (Cornet et al., 2016).

Os temas emergentes ou decrescentes (quadrante inferior esquerdo) que são desenvolvidos de maneira fraca e marginal (Figura 4) formaram 3 grupos: 1 – *Dioscorea rotundata*, com pesquisas relacionadas a agente gelificante do meio de cultivo (Nkere et al., 2011), diferentes meios de cultivo (Santos et al., 2022), criotratamento e regeneração de mudas (Ita et al., 2020), avaliação da microtuberização (Ovono et al., 2010), embriogênese somática (Manoharan et al., 2016), avaliação de práticas de plantio (Cornet et al., 2016) e uso de inibidores de giberelina para induzir brotação em tubérculo (Shiwachi et al., 2003); 2 - *Dioscorea bulbifera* L., pesquisas que abordavam protocolo de micropropagação (Manjunatha et al., 2013; Bhat et al., 2022), indução *in vitro* de microtubérculos, quantificação de compostos fenólicos e avaliação da fidelidade genética (Adeniran et al., 2018) e estudo da epiderme foliar de plantas micropropagadas (Sonibare and Adeniran, 2014); 3 – temas relacionados ao segmento nodal utilizado para micropropagação do inhame.

Os temas básicos (quadrante inferior direito) são importantes para as pesquisas relacionadas à propagação de espécies do gênero *Dioscorea*, mas não são bem desenvolvidos (Figura 4) e formaram 3 grupos: 1 – micropropagação, termo utilizado para plantas propagadas por meio da técnica de cultura de tecidos; 2 – inhame, a cultura objeto deste estudo e 3 - *Dioscorea*.

Na Tabela 1, observa-se um resumo dos principais temas de pesquisas sobre propagação do gênero *Dioscorea*. Os artigos abordaram principalmente temas relacionados à cultura de tecidos (89,8%), buscando estabelecer e/ou melhorar protocolos para a micropropagação da cultura. No geral, buscou-se definir protocolos para desinfestação (Jova e González, 2014; Ramírez et al., 2020), agente gelificante (Nkere et al., 2011), meios de cultivo (Kadota e Niimi, 2004; Bernabé-Antonio et al., 2012; Santos et al., 2022), fotoperíodo (Vaillant et al., 2005), sistemas de cultivos (Jova et al., 2011a; Yan et al., 2011), diminuição da oxidação fenólica (Yan et al., 2011), definição de reguladores de crescimento nas diferentes etapas do cultivo *in vitro* (Souza et al., 2011; Anike et al., 2012; Shah e Lele, 2012; Bhat et al., 2022) e microtuberização (Cabrera et al., 2011; Adeniran et al., 2018; Lee et al., 2018).

Além disso, foram prospectados documentos com o estabelecimento de protocolos para embriogênese somática (Manoharan et al., 2016), criopreservação e limpeza clonal (Shin et al., 2013; Ita et al., 2020), avaliação da fidelidade genética de plantas micropropagadas (Jekayinoluwa et al., 2019), avaliação da produção de metabólitos e compostos bioativos *in vitro*, atividades oxidantes e bioquímicas (Kumar et al., 2017), anatomia foliar das plantas micropropagadas (Marin et al., 2012; Sonibare and Adeniran, 2014) e produção de sementes sintéticas (Huang et al., 2015).

O desenvolvimento de protocolos para a melhoria do sistema tradicionalmente utilizado pelos agricultores foi observado por meio de estudos relacionados ao manejo ideal do tubérculo-semente, abordando-se o estado antes do plantio (pré-brotado ou não), a data de plantio e o peso (Cornet et al., 2016), o tamanho e os espaçamentos (Okamoto et al., 2000) e a redução do período de dormência (Shiwachi et al., 2003). Outros estudos buscaram formas alternativas de propagação como a utilização de estacas caulinares para produção de minitubérculos (Zulu et al., 2020; Aighewi et al., 2021), a técnica minisett (Morse, 2018) e a utilização de sementes botânicas (Kulkarni et al., 2007).

4.3.2. Prospecção científica sobre a caracterização molecular de espécies do gênero *Dioscorea*

Para os termos de busca utilizados, foram obtidos 181 artigos nas bases de dados Web of Science (70) e Scopus (111). Destes, 37 da Web of Science e 72 da Scopus não se enquadravam

no objetivo da pesquisa. Foram excluídos 65 artigos duplicados, restando um total de 44 artigos publicados entre 2000 e 2023. Observou-se uma média de 5,37 artigos publicados por ano, com maior número de publicações em 2017 (7 artigos) e taxa de crescimento anual de 7,11%. O total de citações recebidas foi de 12,82 e o total de citação anual foi de 1,801.

Os artigos foram publicados em 34 periódicos. Os três que apresentaram maior número de documentos sobre o tema da pesquisa foram Genetic Resources and crop Evolution (7 artigos); Physiology and Molecular Biology of plants (2) e Plos One (2). Os artigos foram escritos por 217 autores, com autoria múltipla observada em 100% dos artigos. Os autores mais produtivos foram Agre P. (6 artigos), Asfaw A (6), Asiedu R (6), Adebola P (5), Veasy E (5), Bauchet G (3), Bhattacharjee R (3), Li X (3), Mondo J (3) e Peng B (3).

A China foi o país que mais publicou sobre o tema (10 artigos), seguida pela Nigéria (6), Brasil (5), Índia (4) e Benin (2). As afiliações que mais publicaram foram International Institute of Tropical Agriculture (IITA) (27 artigos), Institute of Botany (10), Jiangxi Agricultural University (10), Navsari Agricultural University (9), Universiti Sultan Zainal Abidin (9), Universidade de São Paulo (7), Polytechnic University of Abomey (6) e Tokyo University of Agriculture (6).

As palavras-chave utilizadas pelos autores que apareceram com maior frequência foram diversidade genética (21), *Dioscorea alata* (7), estrutura da população (7), marcador molecular (6), inhame (6), estrutura genética (4), RAPD - *Random amplified polymorphic* (4), agricultura tradicional (4) e *Dioscorea* (3). Foram identificados seis grupos distintos de Coocorrência de palavras-chave (Figura 5). O grupo azul foi composto pelos termos diversidade genética, estrutura da população, marcadores moleculares, inhames, estrutura genética, *Dioscorea* e AFLP (*Amplified fragment length polymorphism*). O grupo vermelho por *Dioscorea alata*, ISSR (*Inter simple sequence repeats*), RAPD e inhame maior. O grupo roxo por marcadores, molecular e diversidade. O grupo verde por agricultura tradicional e variabilidade genética. O grupo amarelo por microssatélites e variedades locais, e o grupo marrom por inhame branco e ploidia.

Nos estudos de caracterização molecular de germoplasma de *Dioscorea*, os temas mais desenvolvidos na literatura (temas motores – quadrante superior direito) (Figura 6) foram: 1 – temas relacionados a agricultura tradicional e 2 – *Dioscorea alata*, espécie amplamente cultivada (Agre et al., 2019). Os temas especializados e de caráter periférico (quadrante superior esquerdo) (Figura 4) formaram quatro grupos: 1 – determinação do sexo; 2 – *Dioscorea* spp.; 3 – marcadores SSR; 4 – *Dioscorea polystachya*. Os temas emergentes ou decrescentes (quadrante inferior esquerdo) formaram um grupo com o termo ploidia. Os temas básicos (quadrante inferior direito) formaram dois grupos: 1 – estrutura genética e 2 – diversidade genética.

Os marcadores moleculares são ferramentas úteis na caracterização molecular de inhame. Nesta revisão sistemática, foram observados trabalhos utilizando marcadores (Tabela 2): SSR (Mignouna et al., 2003; Loko et al., 2016; Malualem et al., 2018; Kalu et al., 2022; Massawe and Temu 2023); ISSR (Wu et al., 2009; Nascimento et al., 2013; Wu et al., 2014; Yue et al., 2022); RAPD (Zannou et al., 2009; Patel et al., 2019; Rao et al., 2020); DArTseq-SNP (Agre et al., 2019; Darkwa et al., 2020; Agre et al., 2021; Adjei et al., 2023); ISAP (Peng et al., 2017; Yue et al., 2022); SRAP (Wu et al., 2014; Cao et al., 2021; Yue et al., 2022); AFLP (Mignouna et al., 2003; Li and Li, 2007; Tamiru et al., 2007; Velasco-Ramirez et al., 2014); SCoT (Owiti et al., 2023); ISTR (Velasco-Ramirez et al., 2014). Estes foram utilizados para a estimativa da diversidade e estrutura genética, estudo de determinação do sexo, relações genéticas, identificação de espécies e filogenia.

4.4. Discussão

4.4.1. Métodos de propagação do gênero *Dioscorea*

A maioria dos artigos prospectados (89,86%) estavam relacionados à propagação vegetativa por meio da técnica de cultura de tecidos. O periódico que teve mais publicações sobre o tema foi o *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, o qual publica artigos relacionados à biotecnologia vegetal.

A Índia foi o país que mais contribuiu com publicações (12 artigos). Ocorrem 41 espécies e uma variedade, do gênero *Dioscorea*, consideradas importantes para as indústrias nutracêutica e farmacêutica por seus valores nutricionais e medicinais (Waris et al., 2021). A Nigéria foi o segundo país que mais contribuiu com publicações, país para o qual a cultura do inhame apresenta importância para a segurança alimentar (Agre et al., 2019). Estes também são os países que mais fizeram colaborações internacionais de importância para o desenvolvimento da pesquisa, pois proporcionam o intercâmbio de informações, a cooperação, o aumento do conhecimento e o compartilhamento de custos (Gomes et al., 2016). As afiliações mais produtivas sobre o tema da pesquisa também estão localizadas nestes dois países, o que provavelmente contribuiu para o maior número de publicações observado.

Os temas mais desenvolvidos nas pesquisas sobre propagação do gênero *Dioscorea* estão relacionados ao cultivo por meio das técnicas de cultura de tecidos. A micropropagação é uma alternativa para a produção de mudas de alta qualidade para diversas espécies vegetais. Neste sistema, as plantas são cultivadas *in vitro* em meios nutritivos e sob condições controladas de temperatura, luminosidade e fotoperíodo (Silva et al., 2018). Além dessas condições, também é importante a suplementação do meio de cultura com reguladores de crescimento, para favorecer o crescimento e multiplicação das plantas (Monfort et al., 2012).

Nos artigos analisados, foram utilizadas diferentes combinações e concentrações de reguladores de crescimento pertencentes ao grupo dos hormônios auxinas e citocininas. As auxinas são frequentemente usadas na indução de calos e no enraizamento. As citocininas são utilizadas para induzir brotos adventícios a partir de calos ou para induzir brotações a partir de gemas axilares ou apicais (Cid, 2015). Na fase de estabelecimento foram testadas diferentes concentrações, isoladas e/ ou combinadas, de 6-benzilaminopurina (BAP, variou de 0,5 a 10 mg.L⁻¹), cinetina (KIN, 0,5 a 5,0 mg.L⁻¹), Thiadiazuron (TDZ, 0,5 a 5,0 mg.L⁻¹), ácido 1-naftaleno-acético (ANA, 0,5 a 2,0 mg.L⁻¹) e ácido indol-3-butírico (AIB, 0,5 a 5,0 mg.L⁻¹). Para a fase de multiplicação dos brotos, foram avaliadas diferentes concentrações, isoladas e/ ou combinadas, de BAP (0,5 a 5,0 mg.L⁻¹), KIN (0,5 a 10 mg.L⁻¹), ANA (0,1 a 0,5 mg.L⁻¹) e ácido indol-3-acético (AIA, 2,0 mg.L⁻¹). Para o enraizamento, foram testadas concentrações, isoladas e/ ou combinadas, de BAP (0,5 a 1,0 mg.L⁻¹), ANA (1,5 a 3,0 mg.L⁻¹), AIB (0,1 a 3,0 mg.L⁻¹) e AIA (0,5 a 1,5 mg.L⁻¹). Para a indução de calo, foram avaliados KIN (0,05 a 7,0 mg.L⁻¹), ANA (0,1 a 2,5 mg.L⁻¹), BAP (2,0 mg.L⁻¹), AIB (1,0 mg.L⁻¹) e ácido 2,4-diclorofenoxyacético (2,4-D, 0,5 a 2,0 µM). Finalmente, para a microtuberização, foram testadas diferentes concentrações de KIN (0,05 a 7,0 mg.L⁻¹), ANA (0,1 a 2,5 mg.L⁻¹) e AIB (1 mg.L⁻¹).

A cultura de tecidos é considerada uma importante ferramenta para a produção de compostos bioativos de interesse para a indústria farmacêutica, tais como a diosgenina encontrada em espécies do gênero *Dioscorea* (Nazir et al., 2022). Neste sentido, as pesquisas avaliaram a produção destes compostos em plantas cultivadas *in vitro* e, para *Dioscorea birmanica*, a produção *in vitro* de diosgenina nos brotos regenerados foi menor quando comparada à produção da planta mãe (Jirakiattikul et al., 2016). Resultados semelhantes foram obtidos em um protocolo de produção de diosgenina a partir de microtubérculos produzidos *in vitro*. Torna-se necessário, desta forma, a realização de estudos para a elaboração de protocolos para produção em larga escala de diosgenina (Nazir et al., 2022).

A produção de mudas em larga escala pode ser realizada por meio do uso de biorreatores, que são equipamentos para cultivo de qualquer tipo propágulo utilizado em cultura de tecidos, sob imersão temporária ou permanente (Cid, 2015). O sistema de biorreator RITA® foi utilizado para multiplicação de *Dioscorea* spp. e do complexo *Dioscorea cayenensis*-rotundata, sendo considerado eficiente para a rápida multiplicação destas espécies (Polzin et al., 2014; Jekayinoluwa et al., 2019). Uma versão aprimorada e de baixo custo de um sistema de biorreator

de imersão temporal, chamada Hy-TIB, foi utilizada para avaliar os impactos do CO₂ elevado sobre a propagação de segmentos nodais de inhame (*Dioscorea* spp.), tendo observado significativamente melhor desenvolvimento dos propágulos e a não necessidade de açúcares suplementares no meio de cultivo (Trauger et al., 2022).

Na propagação clonal, por meio da cultura de tecidos, tem sido relatada a ocorrência de variação somaclonal, que é a variação fenotípica de origem genética. Essa variação pode ser detectada por meio de marcadores moleculares, os quais foram utilizados com sucesso para algumas espécies do gênero *Dioscorea*. Plantas micropropagadas de *Dioscorea* spp. não apresentaram modificações genéticas, o que foi comprovado por meio de marcadores AFLP (Jekayinoluwa et al., 2019), da mesma forma para *Dioscorea deltoidea*, utilizando marcadores ISSR (Nazir et al., 2020), *Dioscorea bulbifera* e *Dioscorea hirtiflora*, com primers trnH-psbA e rbcL (Adeniran et al., 2018) e *Dioscorea pentaphylla*, com primer SCoT (Manokari et al., 2022). Para a espécie *Dioscorea deltoidea*, foi possível detectar a ocorrência de variações somaclonais por meio de marcadores ISSR (Nazir et al., 2020).

Outros métodos de propagação da cultura foram relacionados em uma pequena parcela dos artigos prospectados (10,14%). A propagação vegetativa do inhame por meio de tubérculo semente foi estudada com o intuito de melhorar o sistema produtivo da cultura, sendo analisadas variáveis relacionadas às práticas de plantio (data de plantio, massa fresca do tubérculo-semente, estado do tubérculo-semente) e que afetam o rendimento da cultura (número e massa de tubérculo) (Cornet et al., 2016). A redução do período de dormência das gemas do tubérculo-semente foi observada por meio da utilização de inibidores de giberelinas, Uniconazole-P e Prohexadione-cálcio, em algumas variedades das espécies *Dioscorea rotundata* e *Dioscorea alata* (Shiwachi et al., 2003).

A utilização de estacas caulinares obtidas de ramas de inhame foi outra técnica observada para a produção de minitubérculos (Zulu et al., 2020) que podem ser utilizados como material propagativo. A massa do minitubérculo produzido influenciou significativamente as variáveis brotação, área foliar, massa média de tubérculo e rendimento, em que os minitubérculos de 5 g apresentaram médias superiores aos de 3 e 1 g (Aighehi et al., 2021).

4.4.2. Caracterização molecular do gênero *Dioscorea*

Os estudos sobre o tema se concentram em países como a China, Nigéria e Brasil. A China é conhecida como um dos centros de origem e domesticação de espécies do gênero *Dioscorea*, apresentando diversos recursos genéticos locais de importância medicinal (Cao et al., 2021). Na Nigéria e no Brasil, o cultivo de espécies desse gênero é considerado importante para alimentação e geração de renda em regiões produtoras (Santos et al., 2007; Asiedu and Sartie, 2010). As afiliações mais produtivas também estão localizadas nestes países, justificando o interesse pelo estudo de caracterização molecular do gênero *Dioscorea*.

Os temas mais bem desenvolvidos e cruciais para a estruturação do objeto de pesquisa estão relacionados à espécie *Dioscorea alata* e à agricultura tradicional. A espécie *Dioscorea alata* foi estudada nos principais países que estudam o tema da pesquisa, sendo considerada importante economicamente em regiões tropicais e subtropicais (Bakayoko et al., 2021). Nessas regiões, o cultivo de *Dioscorea* está relacionado à agricultura tradicional familiar (Santos et al., 2007), área na qual as pesquisas de melhoramento e conservação têm sido negligenciadas. Assim, os agricultores tradicionais possuem papel importante na manutenção da diversidade genética entre as variedades cultivadas em cada região, pois mantêm variedades de sua preferência (Nascimento et al., 2013).

A palavra-chave que apareceu com mais frequência foi diversidade genética, tendo sido utilizada em 21 artigos. Esta também apareceu, juntamente com estrutura genética, no mapa temático como temas importantes para a pesquisa, revelando que a maior parte dos trabalhos está concentrada nessas áreas. Avaliar a diversidade genética de germoplasma de inhame é importante para a conservação dos recursos genéticos e para seu melhoramento (Adjei et al., 2023).

Os marcadores moleculares são ferramentas importantes na avaliação da diversidade e estrutura genética de inhame. Nesta revisão sistemática, foram utilizados nos estudos em maior número, os marcadores SSR (Simple Sequence Repeat) (14 artigos), ISSR (Inter simple Sequence Repeat) (8) e RAPD (Random Amplified Polymorphic) (6) (Tabela 2). Esses são mais utilizados pela simplicidade de execução por meio da técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction) e alta reprodutibilidade. Ademais, os marcadores ISSR e RAPD não necessitam de bibliotecas genômicas, pois são utilizados primers universais.

Os marcadores SSR fornecem altos níveis de polimorfismo, apresentam natureza codominante, alta reprodutibilidade e são abundantes em todo genoma (Girma et al., 2017). Estes foram considerados informativos e com alto poder de discriminação para estudos de diversidade genética de inhame, apresentando alto conteúdo de informação polimórfica, variando de 0,50 a 0,81, nos estudos que utilizaram esse marcador (Girma et al., 2017; Chen et al., 2022). Estudos genéticos entre espécies de inhame também foram realizados utilizando marcadores SSR. Observou-se que algumas espécies de inhame silvestres, como *Dioscorea oppositifolia*, *Dioscorea hamiltonii* e *Dioscorea pubera* apresentavam similaridade genética com a espécie cultivada *Dioscorea alata* (Padhan et al., 2019). Em estudo com 112 acessos de *Dioscorea* de diferentes regiões da China, baseado em 24 primers SSR, obteve-se número de alelos variando de 1 a 7 alelos por locus, indicando a existência de haplóides, diploides, triploides, tetraploides, pentaploides e septaploides na população (Cao et al., 2021).

Marcadores ISSR apresentam herança dominante, são multialélicos, reprodutíveis e geram muitos fragmentos polimórficos (Martinez et al., 2020). Alto nível de polimorfismo (83,62%) foi encontrado na caracterização de 54 genótipos de inhame, baseado em sete primers ISSR. Da mesma forma, Wu et al., (2014) avaliaram a diversidade genética de 21 cultivares de inhame, encontrando um alto nível de polimorfismo (95,3%) baseado em 11 primers ISSR. Tais primers também foram utilizados para avaliar a diversidade e traçar estratégias para seleção de parentais de futuros programas de melhoramento de *Dioscorea alata* (Wu et al., 2009).

O RAPD possui herança dominante e é usado para amplificar sequências aleatórias do genoma (Patel et al., 2019). Ele apresentou alta porcentagem de polimorfismo (93,04%), revelando ser uma técnica útil e com resultados precisos para estudos de diversidade genética de *Dioscorea alata* (Rao et al., 2020). Resultados semelhantes foram obtidos em estudo com diferentes acessos de *Dioscorea* spp., em que os marcadores RAPD foram eficientes na estimativa da diversidade molecular, apresentando alta porcentagem de polimorfismo, alto valor de conteúdo de informação polimórfica e número de bandas polimórficas por primer (Velasco-Ramírez et al., 2014).

A baixa diversidade genética observada em alguns estudos (Padhan et al., 2019; Adjei et al., 2023) pode estar relacionada ao processo de domesticação e à adoção da propagação vegetativa pelos agricultores. Assim, em uma área de cultivo, as plantas de um clone de inhame são geneticamente homogêneas devido à seleção de material propagativo a partir de tubérculos e não de sementes botânicas (Agre et al., 2021). Tais fatores são consequência da ausência de cruzamentos e, consequentemente, da baixa taxa de recombinação genética em espécies do gênero *Dioscorea* (Wu et al., 2019).

Apesar do método de propagação comumente adotado pelos agricultores, foi relatado em alguns estudos alta diversidade genética entre os genótipos estudados (Castañeda-Cardona et al., 2020; Chen et al., 2022; Kalu et al., 2022; Yue et al., 2022). Os motivos que levam à alta diversidade podem estar relacionados ao intercâmbio de material de plantio entre regiões produtoras (Siqueira et al., 2014). Um exemplo disso é o resultado de estudo realizado com cultivares de *Dioscorea rotundata* Poir, no Benin, onde foi demonstrado um fluxo gênico alto entre as regiões estudadas, revelando a existência de um intercâmbio inter-regional de tubérculos-semente de inhame feita pelos agricultores (Agre et al., 2021). Outra prática adotada por agricultores do Benin, que pode favorecer o fluxo gênico, é o estabelecimento de campos de inhame em savanas e florestas, que possibilita a domesticação de espécies selvagens e, consequente, a criação de novas cultivares (Loko et al., 2013).

A realização de cruzamentos entre os genótipos de *Dioscorea* spp. É um processo que aumentaria a recombinação genética e, consequentemente, a diversidade genética observada no campo. No entanto, como já relatado, o florescimento de muitas espécies do gênero é raro e errático. Desta forma, o desenvolvimento de marcadores moleculares para determinação do sexo é crucial para a seleção de genótipos e melhoramento genético da cultura, apesar deste tema ter apresentado relevância limitada. Foi identificado um estudo para desenvolver marcadores SNPs para a determinação do sexo, obtendo-se marcadores nos cromossomos 10, 11 e 16 (Asfaw et al., 2022). Isso facilitaria a seleção e desenvolvimento em programas de melhoramento da cultura. Um exemplo é o marcador ligado ao sexo “sp16” que poderá ser útil para selecionar plântulas para cruzamento, reduzindo o espaço e trabalho durante a fase de cultivo e acelerando os programas de melhoramento (Tamiru et al., 2017).

4.5. Perspectivas futuras

A cultura de tecidos pode ser utilizada para a tuberização *in vitro* de espécies do gênero *Dioscorea*. Neste caso, os protocolos visam a obtenção de material de plantio livre de doenças, para substituir os convencionais (Ita et al., 2020). Um desafio é obter microtúberas em número, peso e com alta taxa de brotação para serem utilizadas em cultivos comerciais. Também podem ser utilizadas para a produção em larga escala e em curto intervalo de tempo de espécies produtoras de metabólitos secundários para suprir a demanda por compostos bioativos pela indústria farmacêutica. Para isso, são necessários protocolos para otimizar a produção, visto que nos trabalhos com inhame, a produção *in vitro* ainda é menor do que a da planta mãe (Nazir et al., 2022).

O conhecimento da caracterização molecular de espécies do gênero *Dioscorea* são importantes para o desenvolvimento de estratégias regionais para a conservação do germoplasma de inhame, além da possibilidade de intercâmbio de genótipos com características genéticas desejáveis entre regiões e países produtores, e da instauração de programas de melhoramento genético. Os resultados das pesquisas podem possibilitar o desenvolvimento e liberação de novas variedades para os agricultores, além de contribuir com o delineamento de estratégias para a conservação e uso das espécies deste gênero.

4.6. Conclusão

A análise bibliométrica permite compreender a estrutura das pesquisas publicadas na área de propagação do gênero *Dioscorea* entre 2000 e 2022 e de caracterização molecular entre 2000 e 2023. Índia, Nigéria e China são os países que mais contribuem com publicações sobre os métodos de propagação, enquanto China, Nigéria e Brasil se destacam com publicações sobre caracterização molecular do gênero *Dioscorea*.

O método de propagação utilizando técnicas de cultura de tecidos e a caracterização molecular para estimativa da diversidade e estrutura genética são as temáticas mais bem desenvolvidas e importantes para o gênero *Dioscorea*.

4.7 Referências

- Adeniran, A.A., Sonibare, M.A., Rajacharya, G.H., Kumar, S., 2018. Assessment of genetic fidelity of *Dioscorea bulbifera* L. and *Dioscorea hirtiflora* Benth. and medicinal bioactivity produced from the induced tuberous roots. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 132, 343–357. <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1334-0>
- Adjei, E.A., Esuma, W., Alicai, T., Bhattacharjee, R., Dramadri, I.O., Edema, R., Chamba, E.B., Odong, T.L., 2023. Genetic diversity and population structure of Uganda's yam (*Dioscorea* spp.) genetic resource based on DArTseq. *Plos One* 18, 1-16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277537>

- Agele, S.O., Ayankanmi, T.G., Kikuno, H., 2010. Effects of synthetic hormone substitutes and genotypes on rooting and mini tuber production of vines cuttings obtained from white yam (*Dioscorea rotundata* Poir). *Afr. J. Biotechnol.* 9, 4714–4724.
- Agre, P.A., Dassou, A. G., Loko, L.E.Y., Idossou, R., Dadonougbo, E., Gbaguidi, A., Mondo, J.M., Muyideen, Y., Adebola, P.O., Asiedu, R., Dansi, A.A., Asfaw, A., 2021. Diversity of white Guinea yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) cultivars from Benin as revealed by agro-morphological traits and SNP markers. *Plant Genetic Resour.: Charac. and Util.* 19, 437–446. <https://doi.org/10.1017/S1479262121000526>
- Agre, P., Asibe, F., Darkwa, K., Edemodu, A., Bauchet, G., Asiedu, R., Adebola, P., Asfaw, A., 2019. Phenotypic and molecular assessment of genetic structure and diversity in a panel of winged yam (*Dioscorea alata*) clones and cultivars. *Scientific reports* 9, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54761-3>
- Aighewi, B., Maroya, N., Kumar, P.L., Balogun, M., Aihebhoria, D., Mignouna, D., Asiedu, R., 2021. Seed yam production using high-quality minitubers derived from plants established with vine cuttings. *Agronomy* 11, 978–991. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050978>
- Akinola, A.A., Ezeorah, S.N., Nwoko, E.P., 2019. Modelling the rehydration characteristics of white yam. *The West Indian Jour. of Engin.* 2, 70–76.
- Andres, C., Adeoluwa, O.O., Bhullar, G.S., 2017. Yam (*Dioscorea* spp.). *Encyclopedia of Applied Plant Sciences* 3, 435–441. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394807-6.00177-5>
- Anike, F.N., Konan, K., Olivier, K., Dodo, H., 2012. Efficient shoot organogenesis in petioles of yam (*Dioscorea* spp). *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 111, 303–313. <https://doi.org/10.1007/s11240-012-0195-9>
- Aria, M., Cuccurullo, C., 2017. Bibliometrix: an R-tool for comprehensive science mapping analysis. *J. Informetr.* 11, 959–975. <https://doi.org/10.1016/j.joi.2017.08.007>
- Asfaw, A., Mondo, J.M., Agre, P.A, Asiedu, R., Akoroda, M.O., 2022. Association mapping of plant sex and cross-compatibility related traits in white Guinea yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) clones. *BMC Plant Biol.* 22, 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03673-y>
- Asiedu, R., Sartie, A., 2010. Crops that feed the World 1. Yams. *Food Secur.* 2, 305–315. <https://doi.org/10.1007/s12571-010-0085-0>
- Bakayoko, L., Pokou, D.N., Kouassi, A.B., Agre, P.A., Kouakou, A.M., Debi, K.E.B., Nizue, B., Mondo, J.M., Adebola, P., Akintayo, O.T., Asfaw, A., N'Guetta, A.S.P., 2021. Diversity of water yam (*Dioscorea alata* L.) accessions from Côte d'Ivoire based on SNP markers and agronomic traits. *Plants* 10, 2562. <https://doi.org/10.3390/plants10122562>
- Bernabé-Antonio, A., Santacruz-Ruvalcaba, F., Cruz-Sosa, F., 2012. Effect of plant growth regulators on plant regeneration of *Dioscorea remotiflora* (Kunth) through nodal explants. *Plant Growth Regul.* 68, 293–301. <https://doi.org/10.1007/s10725-012-9717-z>

- Bhat, M.H., Fayaz, M., Kumar, A., Dar, A.A., Jain, A.K., 2022. Development of an efficient micropropagation system for *Dioscorea bulbifera* L. and phytochemical profile of regenerated plants. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 20, 107-119. <https://doi.org/10.1186/s43141-022-00382-9>
- Borges-García, M., Gómez-Kosky, R., Abeal, E.E., Avalos, D.R., Malaurie, B., Batista, R.D., 2015. Respuesta en campo de plantas *in vitro* de *Dioscorea alata* L. clon “Caraqueño” en distintos momentos de plantación. *Biotechnol. Veg.* 15, 137–142.
- Borges-García, M., Reyes-Avalos, D.M., Leyva-Domínguez, H., Ávila-Medina, U., Lambert-García, T., 2018. Producción de ñame clon Criollo a partir de bulbillos aéreos. *Agronomía Mesoamericana* 29, 75-84. <https://doi.org/10.15517/ma.v29i1.26511>
- Cabrera, M., Gómez, R., Espinosa, E., López, J., Medero, V., Basail, M., Santos, A., 2011. Yam (*Dioscorea alata* L.) microtuber formation in temporary immersion system as planting material. *Biotecnología Aplicada* 28, 268-271.
- Cao, T., Sun, J., Shan, N., Chen, X., Wang, P., Zhu, Q., Xiao, Y., Zhang, H., Zhou, Q., Huang, Y., 2021. Uncovering the genetic diversity of yams (*Dioscorea* spp.) in China by combining phenotypic trait and molecular marker analyses. *Ecol. and Evol.* 11, 9970-9986. <https://doi.org/10.1002/ece3.7727>
- Castañeda-Cardona, C.C., Morillo-Coronado, Y., Morillo, A.C., 2020. Assessing the genetic diversity of *Dioscorea alata* related species from Colombia through inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Chilean Jour. of Agric. Reser.* 80.
- Chen, X., Sun, J., Zhu, Q., Xiao, Y., Zhang, H., Huang, Y., Wang, P., Cao, T., Hu, R., Xiang, Z., Shan, N., Zhou, Q., 2022. Characterizing diversity based on phenotypes and molecular marker analyses of purple yam (*Dioscorea alata* L.) germplasm in southern China. *Genet. Resour. Crop Evol.* 69, 2501-2513. <https://doi.org/10.1007/s10722-022-01388-5>
- Cid, L.P.B., 2015. Cultivo *in vitro* de plantas, fourth ed. Embrapa, Brasília.
- Clarivate, 2023. Web of science core collection. Internet. <https://clarivate.com/products/scientific-and-academic-research/research-discovery-and-workflow-solutions/web-of-science/web-of-science-core-collection/> (accessed January 05, 2023).
- Cornet, D., Sierra, J., Tournebize, R., Gabrielle, B., Lewis, F.I., 2016. Bayesian network modeling of early growth stages explains yam interplant yield variability and allows for agronomic improvements in West Africa. *European Journal of Agronomy* 75, 80–88. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2016.01.009>
- Darkwa, K., Agre, P., Olanmi, B., Iseki, K., Matsumoto, R., Powell, A., Bauchet, G., Koeyer, D.D., Muranaka, S., Adebola, P., Asiedu, R., Terauchi, R., Asfaw, A., 2020. Comparative assessment of genetic diversity matrices and clustering methods in white Guinea yam (*Dioscorea rotundata*) based on morphological and molecular markers. *Scient. Repor.* 10, 13191. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69925-9>
- Das, S., Manabendra, D.C., Pranab, B.M., 2013. Micropropagation of *Dioscorea alata* L. through nodal segments. *Afr. J. Biotechnol.* 12, 6611–6617. <https://doi.org/10.5897/ajb2013.12191>

- Elsevier, 2023. Scopus. How Scopus works. Internet. <https://www.elsevier.com/solutions/scopus> (accessed January 06, 2023).
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOSTAT), 2020. Statistics. Internet. <https://www.fao.org/statistics/en> (accessed January 20, 2023).
- Girma, G., Gedil, M., Spillane, C., 2017. Morphological, SSR and ploidy analysis of water yam (*Dioscorea alata* L.) accessions for utilization of aerial tubers as planting materials. *Gent. Resour. Crop Evol.* 64, 291-305. <https://doi.org/10.1007/s10722-015-0351-2>
- Gomes, C.H.P., Cavalcante, P.S., Lins, W., 2016. Análise de redes de colaboração científica dos docentes do programa de pós-graduação em educação matemática e tecnológica da Universidade Federal de Pernambuco. *Revista de Educação Matemática e Tecnológica Iberoamericana* 1-25.
- Haddaway, N.R., Page, M.J., Pritchard, C.C., McGuinness, L. A., 2022. PRISMA 2020: An R package and Shiny app for producing PRISMA 2020-compliant flow diagrams, with interactivity for optimised digital transparency and Open Synthesis. *Campbell Systematic Reviews* 18, 1230-1242. <https://doi.org/10.1002/cl2.1230>
- Hamadina, E.I., Craufurd, P.Q., 2015. Duration of tuber dormancy in yam *Dioscorea rotundata*: effect of plant growth regulators and its relationship with tuber age. *J. Adv. Biol.* 7, 1230–1237.
- Huang, H., Gao, S., Huang, L., Wang, D., Huang, P., 2015. Preparation technique of tetraploid of *Dioscorea zingiberensis* synthetic seed based on embryogenic callus. *Zhong Yao Cai* 38, 1–4.
- Ita, E.E., Uyoh, E.A., Nakamura, I., Ntui, V.O., 2020. Efficient elimination of yam mosaic virus (YMV) from white yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) by cryotherapy of axillary buds. *South African Journal of Botany* 130, 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.12.022>
- Jekayinoluwa, T., Gueye, B., Bhattacharjee, R., Osibanjo, O., Shah, T., Abberton, M., 2019. Agromorphologic, genetic and methylation profiling of *Dioscorea* and *Musa* species multiplied under three micropropagation systems. *Plos One* 14, 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216717>
- Jirakiattikul, Y., Rithichai, P., Songsri, O., Ruangnoo, S., Itharat, A., 2016. *In vitro* propagation and bioactive compound accumulation in regenerated shoots of *Dioscorea birmanica* Prain & Burkill. *Acta Physiol. Plant* 38, 249-256. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2268-6>
- Jova, M.C., González, J.E., 2014. Ozone as an alternative for disinfection of explants during *in vitro* mass plant propagation. *Ozone Sci. Eng.* 36, 435–439. <https://doi.org/10.1080/01919512.2013.874940>
- Jova, M.C., Kosky, R.G., Cabrera, A.R., de Faria, M., Perez, M.B., Vega, V.M., Torres, J.L., 2011a. Performance of yam microtubers from temporary immersion system in field conditions. *Afr. J. Biotechnol.* 10, 9268–9271. <https://doi.org/10.5897/ajb09.1252>

- Jova, M.C., Kosky, R.G., Cuellar, E.E., 2011b. Effect of liquid media culture systems on yam plant growth (*Dioscorea alata* L. 'Pacala Duclos'). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 15, 515-521.
- Kadota, M., Niimi, Y., 2004. Improvement of micropropagation of Japanese yam using liquid and gelled medium culture. *Sci. Hortic.* 102, 461–466. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2004.06.004>
- Kalu, S.E., Ubi, G.M., Osuagwu, A.N., Ekpo, I.A., Edem, L.U., 2022. Microsatellite fingerprinting, enzymes activity and chlorophyll profiling of local lines of air potato yam (*Dioscorea bulbifera* L.) for salt tolerance. *Asian J. Agric. Biol.* 3, 1-14. <https://doi.org/10.35495/ajab.2021.01.08>
- Kulkarni, M.G., Street, R.A., Van Staden, J., 2007. Germination and seedling growth requirements for propagation of *Dioscorea dregeana* (Kunth) Dur. and Schinz - A tuberous medicinal plant. *South African Journal of Botany* 73, 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2006.09.002>
- Kumar, A., Goyal, S.C., Sharma, N., Pooja, Singh, A., Lata, C., Parshad, J., Rajkumar, Ekta, 2017. Changes in biochemical constituents, enzyme activities and protein profiles during root-shoot differentiation in callus culture of *Dioscorea alata*. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 87, 107-114.
- Lee, N.N., Kim, J.A., Kim, Y.W., Kim, T.D., 2018. Microtuberization and acclimatization in the *Dioscorea cayenensis* Thunb. by the carbon source. *J. Plant Biotechnol.* 45, 125–130. <https://doi.org/10.5010/JPB.2018.45.2.125>
- Li, Y.H., Li, X., 2007. Exploring genetic diversity in *Dioscorea zingiberensis* by amplified fragment length polymorphism molecular markers. *Biol., Envir. Scien.* 33, 341-348.
- Loko, Y.L., Dansi, A., Linsoussi, C., Tamo, M., Vodouhè, R., Akoegninou, A., Sanni, A., 2013. Current status and spatial analysis of Guinea yam (*Dioscorea cayenensis* Lam.-*D. rotundata* Poir. complex) diversity in Benin. *Inter. Resear. Journ. of Agric. Scien. and Soil Scien.* 7, 219-238.
- Loko, Y., Bhattacharjee, R., Agre, A.P., Dossou-Aminon, I., Orobisi, A., Djedatin, G. L. Dansi, A., 2017. Genetic diversity and relationship of Guinea yam (*Dioscorea cayenensis* Lam. – *D. rotundata* Poir. Complex) germplasm in Benin (West Africa) using microsatellite markers. *Genet. Resour. Crop Evol.* 64, 1205-1219. <https://doi.org/10.1007/s10722-016-0430-z>
- Manjunatha, B.K., Vidya, S.M., Pradeepa, Shameem, B., Ruhinaz, T., Sunitha, B.J., Smitha, N., 2013. Rapid *in vitro* propagation of *Dioscorea bulbifera* through bulbils and nodal segments. *Research Journal of Biotechnology* 8, 10-16.
- Manoharan, R., Tripathi, J.N., Tripathi, L., 2016. Plant regeneration from axillary bud derived callus in white yam (*Dioscorea rotundata*). *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 126, 481–497. <https://doi.org/10.1007/s11240-016-1017-2>
- Manokari, M., Badhepuri, M.K., Cokulraj, M., Sandhya, D., Dey, A., Kumar, V., Faisal, M., Alatar, A.A., Singh, R.K., Shekhawat, M.S., 2022. Validation of meta-topolin in organogenesis, improved morpho-physio-chemical responses, and clonal fidelity analysis

- in *Dioscorea pentaphylla* L. – an underutilized yam species. South African Journal of Botany 145, 284–292. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.12.039>
- Marin, E., Vargas, T.E., Oropeza, M., 2012. Genetic variability and comparative leaf anatomy of plants of *Dioscorea alata* maintained under *in vitro* culture. Interciencia 37, 477–483.
- Martínez, M.A., Morillo, A.C., Reyes-Ardila, W., 2020. Characterization of the genetic diversity in Passiflora spp. in the Boyacá Department, Colombia. Chilean J. of Agric. Resear. 80, 342–351. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392020000300342>
- Massawe, J.I., Temu, G.E., 2023. Unravelling the genetic diversity of water yam (*Dioscorea alata* L.) accessions from Tanzania using simple sequence repeat (SSR) markers. Plos One 18, 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0286480>
- Mehrafarin, A., Qaderi, A., Rezazadeh, S., Naghdi, B.H., Noormohammadi, G., Zand, E., 2010. Bioengineering of important secondary metabolites and metabolic pathways in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). Journal of Medicinal Plants 9, 1–18. <https://doi.org/20.1001.1.2717204.2010.9.35.1.1>
- Mignouna, B.H.D., Abang, M.M., Fagbemi, S.A., 2003. A comparative assessment of molecular markers assays (AFLP, RAPD and SSR) for white yam (*Dioscorea rotundata*) germplasm characterization. Ann. Appl. Biol. 142, 269–276.
- Mignouna, H., Mank, R., Ellis, T., Bosch, N.V.D., Asiedu, R., Peleman, J.A., 2002. Genetic linkage map of Guinea yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) based on AFLP markers. Theor Appl Genetic 105, 716–725.
- Monfort, L.E.F., Pinto, J.E.B.P., Bertolucci, S.K.V., Rossi, Z.T.T., Santos, F.M., 2012. Efeito do BAP no cultivo *in vitro* de *Ocimum selloi* Benth. Revista Brasileira de Plantas Medicinai 14, 458–463. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000300006>
- Morse, S., 2018. Analysis of yam minisett technique adoption in Nigeria. J. Crop Improv. 32, 511–531. <https://doi.org/10.1080/15427528.2018.1458365>
- Muluaalem, T., Mekbib, F., Shimelis, H., Gebre, E., Amelework, B., 2018. Genetic diversity of yam (*Dioscorea* spp.) landrace collections from Ethiopia using simple sequence repeat markers. Austr. Jour. of Crop Scien. 12, 1223–1230. <https://doi.org/10.21475/ajcs.18.12.08.PNE885>
- Nascimento, W.F., Rodrigues, J.F., Koehler, S., Gepts, P., Veasey, E.A., 2013. Spatially structured genetic diversity of the Amerindian yam (*Dioscorea trifida* L.) assessed by SSR and ISSR markers in Southern Brazil. Genet. Resour. Crop Evol. 60, 2405–2420. <https://doi.org/10.1007/s10722-013-0008-y>
- Nazir, R., Gupta, S., Dey, A., Kumar, V., Gupta, A.P., Shekhawat, M.S., Goyal, P., Pandey, D.K., 2022. *In vitro* tuberization, genetic, and phytochemical fidelity assessment of *Dioscorea deltoidea*. Ind. Crops Prod. 175. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114174>
- Nazir, R., Gupta, S., Dey, A., Kumar, V., Yousuf, M., Hussain, S., Dwivedi, P., Pandey, D.K., 2020. *In vitro* propagation and assessment of genetic fidelity in *Dioscorea deltoidea*, a potent diosgenin yielding endangered plant. South African Journal of Botany 140, 349–355. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.07.018>

- Nkere, C.K., Ihezue, C.I., Mbanaso, E.N.A., 2011. Micropropagation of yam (*Dioscorea rotundata*): assessment of performance in Cassava starch-gelled medium. *Biotechnology* 10, 551-553. <https://doi.org/10.3923/biotech.2011.551.553>
- Nudin, N.F.H., Ali, A.M., Ngah, N., Mazlan, N.Z., Mat, N., Ghani, M.N.A., Alias, A.J.Z., Jahan, S., 2017. ISSR marker-assisted genetic diversity analysis of *Dioscorea hispida* and selection of the best variety for sustainable production. *Compt. Rend. Biol.* 340, 359-366. <http://dx.doi.org/10.1016/j.crv.2017.08.003>
- Okamoto, T., Umezaki, T., Nagaya, Y., Taniyama, T., 2000. Cultural technique for efficient seed propagation of Chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.). *Japanese Journal of Crop Science* 69, 476–480. <https://doi.org/10.1626/jcs.69.476>
- Oliveira, A.P., Silva, D.F., Silva, J.A., Oliveira, A.N.P., Santos, R.R., Silva, N. V, Oliveira, F.J.M., 2012. Tecnologia alternativa para produção de túberas-semente de inhame e seus reflexos na produtividade. *Horticultura Brasileira* 30, 553-556.
- Olu-Olusegun, F., Babil, P., Kikuno, H., Irie, K., Toyohara, H., Shiwachi, H., 2018. Intra-specific genetic diversity in water yam (*Dioscorea alata* L.) accessions collected from Myanmar, Papua New Guinea and Japan. *J. Issaas* 1, 107-117.
- Ovono, P.O., Kevers, C., Dommès, J., 2010. Effects of storage conditions on sprouting of microtubers of yam (*Dioscorea cayenensis*-*D. rotundata* complex). *C. R. Biol.* 333, 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2009.11.001>
- Owiti, A.A., Bargul, J.L., Obiero, G.O., Nyaboga, E.N., 2023. Analysis of genetic diversity and population structure in yam (*Dioscorea species*) germplasm using Start Codon Targeted (SCoT) molecular markers. *Inter. Jour. of Plant Biol.* 14, 299-311. <https://doi.org/10.3390/ijpb14010025>
- Padhan, B., Mukherjee, A.K., Mohanty, S.K., Lenka, S.K., Panda, D., 2019. Genetic variability and inter species relationship between wild and cultivated yams (*Dioscorea* spp.) from Koraput, India based on molecular and morphological markers. *Physiol. Mol. Biol. Plants* 25, 1225-1233. <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00691-3>
- Peng, B., Zhang, Y., Sun, X. Li, M., Xue, J., Hang, Y., 2017. Genetic relationships and identification of *Dioscorea polystachya* cultivars accessed by ISAP and SCAR markers. *Arch. Biol. Sci.* 69, 277-284. <https://doi.org/10.2298/ABS150717098P>
- Raina, A.P., Misra, R.C., 2020. Evaluation of diosgenin, a bioactive compound from natural source of *Dioscorea* species: a wild edible tuber plant. *J. Pharmacogn Phytochem.* 9, 1120–1124.
- Ramírez, J.E.G., Jova, M.C., Robaina, A., Pérez, D.R., Cadalso, A.G., Portal, O., 2020. Water-dissolved ozone mediates potyvirus sanitation during *in vitro* propagation of *Dioscorea Cayenensis* Subsp. *Rotundata* (Poir.) Miège. *Ozone Sci. Eng.* 42, 89–94. <https://doi.org/10.1080/01919512.2019.1598845>
- Rao, G.K., Kapadia, C., Patel, N.B., Desai, K.D., Murthy, P.N.N., 2020. Genetic diversity analysis of greater yam (*Dioscorea alata* L.) genotypes through RAPD and ISSR markers. *Biocat. and Agric. Biotec.* 23, 101495. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101495>

- R Core Team, 2022. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Santos, C.A., Arrigoni-Blank, M.F., Gois, I.B., Costa, A.S., Oliveira, S.D.S., Blank, A.F. Minutuber production in yam for alternative vegetative propagation: types of cuttings, substrates, and anatomy. *Ciênc. Rural* 53, 1-9. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210802>
- Santos, K.C.F., Rabelo, J.S.S., Sampaio, L.F.S., Carvalho, M.J.S., Da Silva Ledo, C.A., Souza, A. S., 2022. Culture media in the *in vitro* multiplication of “Inhame da Costa” (*Dioscorea rotundata* Poir.). *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 17. <https://doi.org/10.5039/agraria.v17i1a128>
- Santos, E.S., Fontinelli, I.S.C., Lacerda, J.T., Matias, E.C., Barbosa, M.M., 2007. Sistema alternativo de produção de sementes de inhame (*Dioscorea* sp). *Tecnol. e Ciênc. Agropec.* 1, 19-24.
- Semwal, P., Painuli, S., Cruz-Martins, N., 2021. *Dioscorea deltoidea* wall. Ex Griseb: A review of traditional uses, bioactive compounds and biological activities. *Food Biosci.* 41. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100969>
- Shah, H.J., Lele, S.S., 2012. *In vitro* propagation of *Dioscorea alata* var. *purpureae*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 167, 1811–1817. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9658-z>
- Shin, J.H., Kang, D.K., Sohn, J.K., 2013. Production of yam mosaic virus (YMV)-free *Dioscorea opposita* plants by cryotherapy of shoot-tips, *CryoLetters* 34, 149-157.
- Shiwachi, H., Ayankanmi, T., Asiedu, R., Onjo, M., 2003. Induction of sprouting in dormant yam (*Dioscorea* spp.) tubers with inhibitors of gibberellins. *Exp. Agric.* 39, 209–217. <https://doi.org/10.1017/S001447970200114X>
- Silva, J.P.G., Costa, T.P.D., Costa, M.K.C., Araújo, M.R.S., Araújo, K.S., Silva, A.C.M., Oliveira, P.C., Sia, E.D.F., 2018. Efeito da citocinina 6-benzilaminopurina (BAP) sobre o estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais de *Rosa* sp. *Revista Agroecossistemas* 9, 370–380. <https://doi.org/10.18542/ragros.v9i2.5097>
- Silva, L.E.R., Trindade, R.C.P., Lemos, E.E.P., 2014. Enraizamento de estacas de inhame (*Dioscorea* spp.). *Comunicata Scientiae* 5, 486–492.
- Siqueira, M.V.B.M., Bonatelli, M., Gunther, T., Gawenda, I., Schmid, K. J., Pavinato, V.A.C., Veasey, E.A., 2014. Water yam (*Dioscorea alata* L.) diversity pattern in Brazil an analysis with SSR and morphological markers. *Genet. Resour. Crop Evol.* 61, 611-624. <https://doi.org/10.1007/s10722-013-0063-4>
- Siqueira, M.V.B.M., 2009. Inhame (*Dioscorea* spp.): uma cultura ainda negligenciada. *Hort. Brasil.* 27, 4075-4090.
- Sonibare, M.A., Adeniran, A.A., 2014. Comparative micromorphological study of wild and micropropagated *Dioscorea bulbifera* Linn. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 4, 176–183. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60228-8](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60228-8)

- Souza, A.V., Bertoni, B.W., França, S. de C., Pereira, A.M.S., 2011. Micropropagação de *Dioscorea multiflora* Griseb. Ciênc.agrotec. 35, 92-98.
- Souza, V.C., Lorenzi, H., 2012. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas do Brasil, baseado em APG III, third. ed. Nova Odessa, São Paulo.
- Sun, X., Guo, J.L., Zhou, Y.F., Peng, B., 2010. Study on genetic diversity of different populations of *Dioscorea collettii* and *Dioscorea collettii* var. *hypoglauca* based on RAPD marker. J. of Plant Resour. and Envir. 19, 12-17.
- Tamiru, M., et al., 2017. Genome sequencing of the staple food crop white Guinea yam enables the development of a molecular marker for sex determination. BMC Biology 15, 1-20. <https://doi.org/10.1186/s12915-017-0419-x>
- Tamiru, M., Becker, H.C., Maass, B.L., 2007. Genetic diversity in yam germplasm from Ethiopia and their relatedness to the main cultivated *Dioscorea* species assessed by AFLP markers. Crop Science 49, 1744-1753. <https://doi.org/10.2135/cropsci2006.11.0719>
- Trauger, M., Hile, A., Sreenivas, K., Shouse, E.M., Bhatt, J., Lai, T., Mohandass, R., Tripathi, L., Ogden, A.J., Curtis, W.R., 2022. CO₂ supplementation eliminates sugar-rich media requirement for plant propagation using a simple inexpensive temporary immersion photobioreactor. Plant Cell Tissue Organ Cult. 150, 57-71. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02210-3>
- Uyoh, E.A., Ita, E.E., Essien, M., Ewona, E.A.F., Binang, M., 2016. Effect of synthetic hormone substitutes on rooting of vine cuttings in water yam (*Dioscorea alata* L.). Am. J. Plant Sci. 07, 1372-1379. <https://doi.org/10.4236/ajps.2016.79130>
- Velasco-Ramírez, A., Torres-Morán, M., Molina-Moret, S., Sánchez-González, J.J., Santacruz-Ruvalcaba, F., 2014. Efficiency of RAPD, ISSR, AFLP and ISTR markers for the detection of polymorphisms and genetic relationships in camarote de cerro (*Dioscorea* spp.). Electronic Jour. of Biotec. 17, 65-71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejbt.2014.01.002>
- Vaillant, V., Bade, P., Constant, C., 2005. Photoperiod affects the growth and development of yam plantlets obtained by *in vitro* propagation. Biologia plantarum 49, 355-359.
- Vasconcelos, Y.L., 2014. Estudos Bibliométricos: Procedimentos Metodológicos e Contribuições. Ciênc. Juríd. Empres. 15, 211-220.
- Viruel, J., Catalán, P., Segarra-Moragues, J.G., 2012. Disrupted phylogeographical microsatellite and chloroplast DNA patterns indicate a vicariance rather than long-distance dispersal origin for the disjunct distribution of the Chilean endemic *Dioscorea biloba* (Dioscoreaceae) around the Atacama Desert. J. of Biogeogr. 39, 1073-1085. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02658.x>
- Wang, G., Wu, X., Li, Q., 2022. A bibliometric study of news discourse analysis (1988-2020). Discour. Commun. 16, 110-128. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240010>
- Waris, R., Tripathi, S., Shukla, A.C., Agnihotri, P., 2021. An overview of the genus *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae) in India. Plant Science Today 8, 72-78. <https://doi.org/10.14719/pst.2021.8.1.878>

- Wu, W., Chen, C., Zhang, Q., Ahmed, J.Z., Xu, Y., Huang, X., Xie, J., Xia, W., Huang, D., 2019. A comparative assessment of diversity of greater yam (*Dioscorea alata*) in China. *Sci. Hortc-Amsterdam* 243, 116-124.
- Wu, Z. G., Li, X.X., Lin, X.C., Jiang, W., Tao, Z.M., Mantri, N., Fan, C.Y., Bao, X.Q., 2014. Genetic diversity analysis of yams (*Dioscorea* spp.) cultivated in China using ISSR and SRAP markers. *Genet. Resour. Crop Evol.* 61, 639-650. <https://doi.org/10.1007/s10722-013-0065-2>
- Wu, Z., Leng, C., Tao, Z., Wei, Y., Jiang, C., 2009. Genetic diversity of *Dioscorea alata* based on ISSR analysis. *Zhong. Zhong Yao Za Zhi* 34, 3017-3020.
- Yan, H., Yang, L., Li, Y., 2011. Axillary shoot proliferation and tuberization of *Dioscorea fordii* Prain et Burk. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 104, 193–198. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9818-1>
- Yin, M.-H., Xu, Z.-J., Huang, W., He, L.-S., Liu, G.-H., Hong, S.-R., 2016. RAPD analysis of genetic diversity of *Dioscorea opposita* germplasm resources from Jiangxi and genetic stability of their plantlets. *Chinese Traditional and Herbal Drugs* 47, 3486–3493.
- Yoshida, Y., Kikuchi, S., Kanda, H., Takahashi, H., Hosogoe, K., Kagaya, R., Togashi, E., Takahashi, T., Kanahama, K., 2016. Effects of seed tuber weight and intrarow spacing on the development of shoots and new tubers in Chinese yam (*Dioscorea oppositifolia* 'Tsukuneimo'). *Acta Hortic.* 1118, 73–78. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1118.11>
- Yue, W., Zixia, G., Min, C., Yanmei, Z., Xiaoqin, S., Yifeng, Z., Peng, B., 2022. Genetic relationship and species identification of *Dioscorea polystachya* Turz. in yams determined by ISSR, ISAP, SRAP and SCAR markers. *Genet. Resour. Crop Evol.* 69, 1953-1964. <https://doi.org/10.1007/s10722-022-01356-z>
- Zannou, A., Agbicodo, E., Zoundjihékpon, J., Struik, P.C., Ahanchédé, A., Kossou, D.K., Sanni, A., 2009. Genetic variability in yam cultivars from the Guinea-Sudan zone of Benin assessed by Random amplified polymorphic DNA. *Afri. J. of Biotech.* 8, 26-36.
- Zulu, D., Ellis, R.H., Culham, A., 2020. Propagation of lusala (*Dioscorea hirtiflora*), a wild yam, for in situ and ex situ conservation and potential domestication. *Exp. Agric.* 56, 453–468. <https://doi.org/10.1017/S0014479720000083>

Tabela 1

Resumo dos temas abordados nas publicações sobre propagação do gênero *Dioscorea*, entre 2000-2022, prospectadas nas bases Web of Science e Scopus.

Temas abordados nos artigos	Espécies	Referências
Cultivo <i>in vitro</i>		
<i>Tipo de explantes:</i>		
- Córtex do tubérculo, folha e segmentos nodais.	<i>Dioscorea alata</i> var. <i>purpurea</i>	Shah and Lele, 2012
<i>Desinfestação:</i>		
- Ozônio em fase gasosa e aquosa.	<i>Dioscorea</i> ;	Jova and González, 2014;
- Eletroterapia.	<i>Dioscorea cayenensis rotundata</i> ;	Ramírez et al., 2020
<i>Agente gelificante:</i>		
- Amido de mandioca.	<i>Dioscorea rotundata</i> ;	Nkere et al., 2011
<i>Meio de cultivo:</i>		
- Meios de cultura MS, Galzy, 2GGC, B5, WPM, BM e LS.	<i>Dioscorea rotundata</i> Poir;	Kadota and Niimi, 2004; Bernabé-
- Utilização de silício (diferentes concentrações e fontes).	<i>Dioscorea remotiflora</i> Kunth;	Antonio et al., 2012; Rodrigues et
	<i>Dioscorea japonica</i> Thunb;	al., 2017; Santos et al., 2022
	<i>Dioscorea</i> spp.	
<i>Carvão ativado:</i>		
- Presença e ausência.	<i>Dioscorea fordii</i>	Yan et al., 2011
<i>Sistema de cultivo:</i>		
- Meio líquido e semissólido;	<i>Dioscorea fordii</i> ;	Jova et al., 2011a; Yan et al.,
- Sistema de Imersão Constante com aeração por borbulhamento	<i>Dioscorea alata</i> L.	2011; Polzin et al., 2014;
contínuo em meio de cultura (CIS);	<i>Dioscorea</i> spp.	Jekayinoluwa et al., 2019; Trauger
- Meio Static Liquid Culture System (SLS)	<i>D. cayenensis-rotundata</i>	et al., 2022
- Bioreator RITA (TIS);		
- Versão aprimorada e de baixo custo de um TIB acionado		
hidrostaticamente (Hy-TIB);		

Tabela 1 (Continuação)

Temas abordados nos artigos	Espécies	Referências
<i>Uso de reguladores de crescimento:</i> - Estabelecimento: BA, KIN, TDZ. - Multiplicação: BA, KIN, IBA, NAA. - Enraizamento: IAA, IBA e NAA. - Organogênese da parte aérea: cinetina, zeatina. - Formação de calos: 2,4-D.	<i>Dioscorea bulbifera</i> ; <i>Dioscorea cayenensis</i> Lam; <i>Dioscorea rotundata</i> Poir e <i>Dioscorea alata</i> Lam. <i>Dioscorea alata</i> var. <i>purpurea</i> . <i>Dioscorea multiflora</i> ; <i>Dioscorea alata</i>	Souza et al., 2011; Anike et al., 2012; Shah and Lele, 2012; Bhat et al., 2022 Vaillant et al., 2005
<i>Fotoperíodo</i> <i>Microtuberização:</i> - Utilização de Reguladores de Crescimento: Cinetina, ácido naftalenoacético, benzilaminopurina, ácido idol-3-butírico, paclobutrazol, metil jasmonato. - Concentração de sacarose e glicose. - Condições e tempo de armazenamento, e tamanho de microtubérculos; avaliação em condições de campo. - Sistemas de imersão temporária.	<i>Dioscorea bulbifera</i> e <i>Dioscorea hirtiflora</i> ; <i>Dioscorea fordii</i> ; <i>Dioscorea cayenensis</i> – <i>D. rotundata</i> Complex; <i>Dioscorea caynensis</i> ; <i>Dioscorea alata</i> ;	Ovono et al., 2010; Cabrera et al., 2011; Jova et al., 2011b; Yan et al., 2011; Adeniran et al., 2018; Lee et al., 2018
<i>Criopreservação:</i> Crioterapia para eliminar o vírus do mosaico do inhame.	<i>Dioscorea rotundata</i> ; <i>Dioscorea opposita</i> ; <i>Dioscorea rotundata</i>	Shin et al., 2013; Ita et al., 2020
<i>Embriogênese somática</i> <i>Avaliação da fidelidade genética</i>	<i>Dioscorea spp.</i> <i>Dioscorea deltoidea</i> ; <i>Dioscorea alata</i> ; <i>Dioscorea opposita</i> <i>Dioscorea zingiberensis</i>	Manoharan et al., 2016 Marin et al., 2012; Yin et al., 2016; Jekayinoluwa et al., 2019; Nazir et al., 2020
<i>Produção de sementes sintéticas</i>	<i>Dioscorea zingiberensis</i>	Huang et al., 2015

Tabela 1 (Continuação)

Temas abordados nos artigos	Espécies	Referências
Outros métodos		
<i>Propagação por tubérculo-semente:</i>		
- Manejo de tubérculos-semente (estado de brotação, data de plantio e peso)	<i>D. alata</i> ‘Florido’ e <i>D. rotundata</i> ‘Morokorou’;	Okamoto et al., 2000; Cornet et al., 2016; Morse, 2018; Shiwachi et al., 2003
- Peso do tubérculo-semente e espaçamento entre fileiras para propagação usando seccionamento de tubérculos.	<i>Dioscorea oppositifolia</i> ‘Tsukuneimo’.	Yoshida et al., 2016
- Redução do período de dormência: Uniconazole-P e Prohexadione-cálcio.	<i>Dioscorea opposita</i> Thunb;	
- Técnica Minisett.	<i>Dioscorea rotundata</i> e <i>Dioscorea alata</i> ;	
	<i>Dioscorea rotundata</i> Poir.	
<i>Propagação por estacas caulinares:</i>	<i>Dioscorea hirtiflora</i> ; <i>Dioscorea</i> spp.	Zulu et al., 2020; Aighewi et al., 2021
- Estaquia.		
- Brotação dos minitubérculos (obtidos por meio de estacas) de diferentes tamanhos.		
<i>Germinação de sementes botânicas</i>	<i>Dioscorea dregeana</i>	Kulkarni et al., 2007

Tabela 2

Marcadores moleculares, espécie e objetivo para os quais foram utilizados em estudos de caracterização molecular do gênero *Dioscorea*, prospectadas nas bases Web of Science e Scopus.

Marcador Molecular	Espécie avaliada	Objetivo da utilização	Referências
- SSR (Simple sequence repeats)	<i>Dioscorea</i> spp.; <i>Diocorea alata</i> L.; <i>Dioscorea bulbifera</i> L.; <i>Dioscorea cayenensis</i> Lam.; <i>Dioscorea rotundata</i> Poir; <i>Dioscorea trifida</i> L.; <i>Dioscorea biloba</i>	Diversidade e estrutura genética; estudos de relações genéticas.	Mignouna et al., 2003; Viruel et al., 2011; Nascimento et al., 2013; Siqueira et al., 2014; Loko et al., 2016; Silva et al., 2016; Girma et al., 2017; Maluallem et al., 2018; Olu-Olusegun et al., 2018; Padhan et al., 2019; Cao et al., 2021; Chen et al., 2022; Kalu et al., 2022; Massawe and Temu 2023
- ISSR (Inter simple sequence repeats)	<i>Dioscorea alata</i> L.; <i>Dioscorea trifida</i> L.; <i>Dioscorea hispida</i> ; <i>Dioscorea</i> spp.; <i>Dioscorea polystachya</i>	Diversidade e relações genéticas	Wu et al., 2009; Nascimento et al., 2013; Velasco-Ramírez et al., 2014; Wu et al., 2014; Nundin et al., 2017; Castanheda et al., 2020; Rao et al., 2020; Yue et al., 2022
- RAPD (Random amplified polymorphic)	<i>Dioscorea rotundata</i> Poir; <i>Dioscorea alata</i> L.; <i>Dioscorea</i> spp.; <i>Dioscorea cayenensis</i> Lam.; <i>Dioscorea collettii</i>	Diversidade genética	Mignouna et al., 2003; Zannou et al., 2009; Sun et al., 2010; Velasco-Ramírez et al., 2014; Patel et al., 2019; Rao et al., 2020
- DArtseq-SNP (Diversity Array Technology-Single Nucleotide Polymorphism)	<i>Dioscorea</i> spp.; <i>Dioscorea alata</i> L.; <i>Dioscorea rotundata</i> Poir.	Diversidade e relações genéticas	Agre et al., 2019; Darkwa et al., 2020; Agre et al., 2021; Bakayoko et al., 2021; Asfaw et al., 2022; Adjei et al., 2023
- SRAP (Sequence-related amplified polymorphism)	<i>Dioscorea</i> spp.; <i>Dioscorea polystachya</i>	Diversidade e relações genéticas	Wu et al., 2014; Yue et al., 2022
- AFLP (Amplified fragment length polymorphism)	<i>Dioscorea</i> spp. <i>Dioscorea rotundata</i> Poir.; <i>Dioscorea zingiberensis</i>	Diversidade e estrutura genética	Mignouna et al., 2003; Tamiru et al., 2007; Li and Li, 2007; Velasco-Ramírez et al., 2014

Tabela 2 (Continuação)

Marcador Molecular	Espécie avaliada	Objetivo da utilização	Referências
- ISAP (Intron Sequence Amplified Polymorphism)	<i>Dioscorea polystachya</i>	Relações genéticas	Peng et al., 2017; Yue et al., 2022
- SCoT (Start Codon Targeted)	<i>Dioscorea</i> spp.	Diversidade e estrutura genética	Owiti et al., 2023
- SCAR (Sequence Characterized Amplified Region)	<i>Dioscorea polystachya</i>	Identificação de espécie	Peng et al., 2017; Yue et al., 2022
- ISTR (Inverse Sequence Tagged Repeat)	<i>Dioscorea</i> spp.	Diversidade e relações genéticas	Velasco-Ramírez et al., 2014

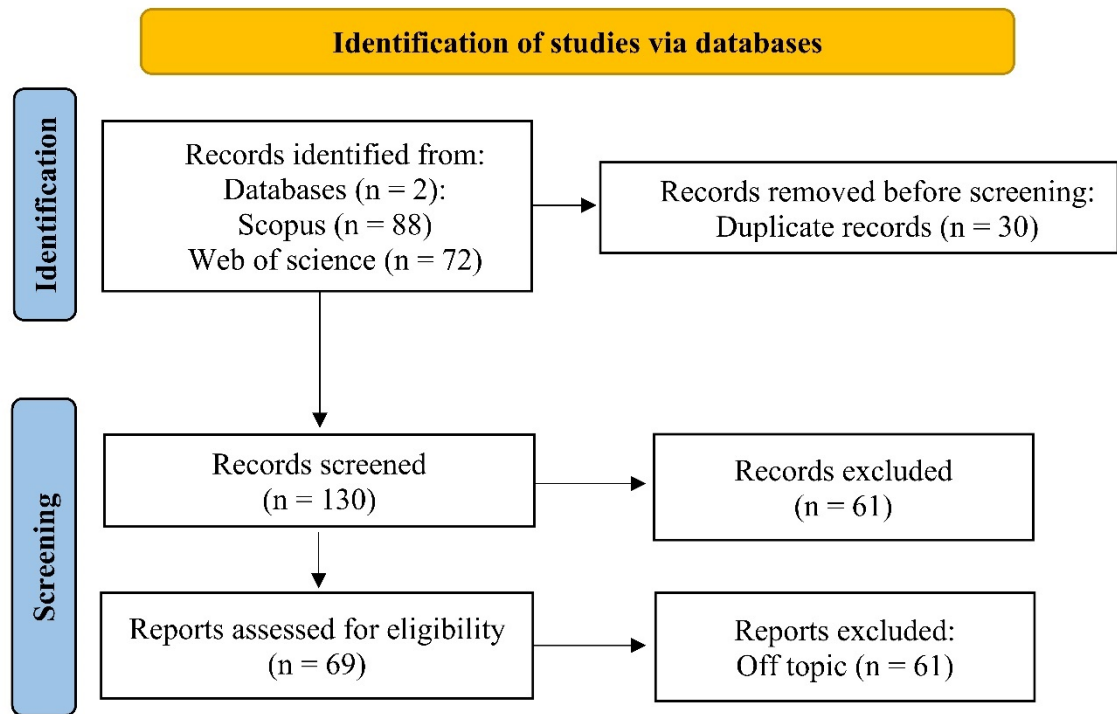


Figura 1: Fluxograma da prospecção científica sobre propagação do gênero *Dioscorea*, modelo PRISMA 2020 (Haddaway et al., 2020).

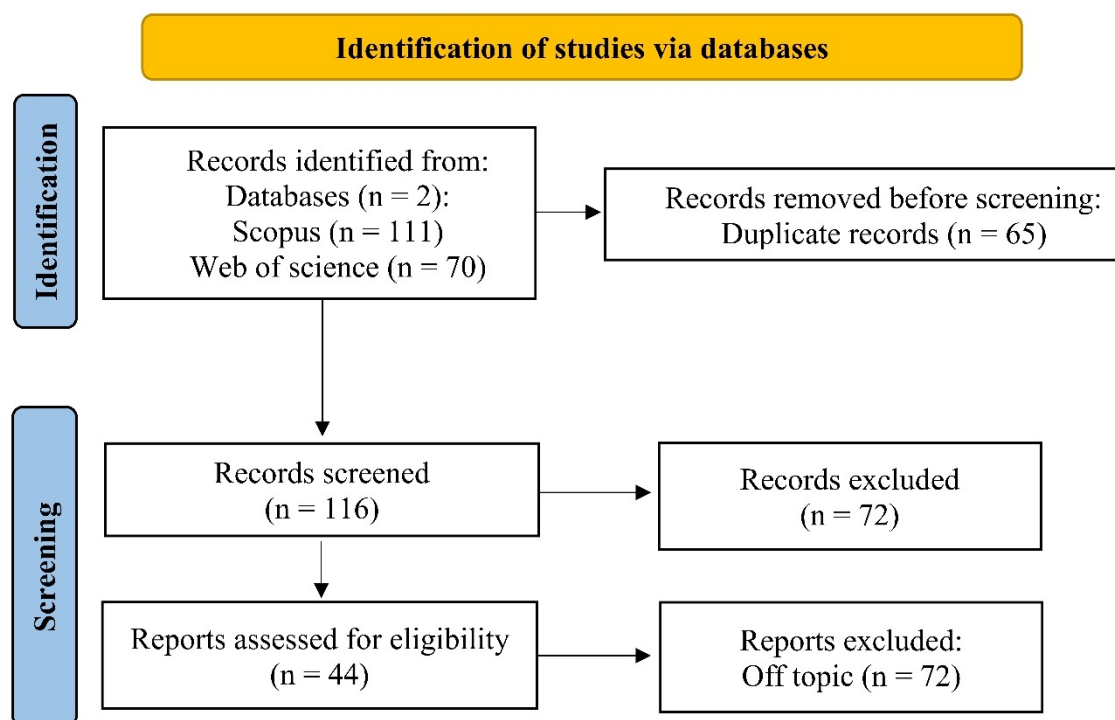


Figura 2: Fluxograma da prospecção científica sobre caracterização molecular do gênero *Dioscorea*, modelo PRISMA 2020 (Haddaway et al., 2020).

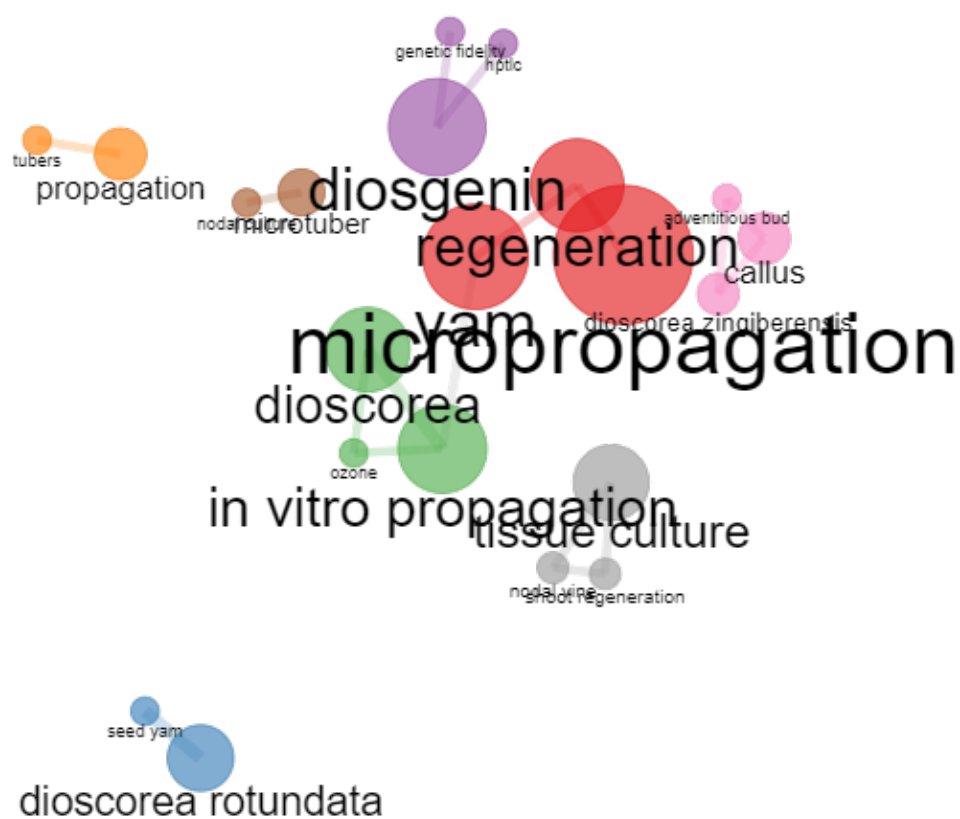


Figura 3: Coocorrência de palavras-chave de publicações sobre propagação do gênero *Dioscorea*.

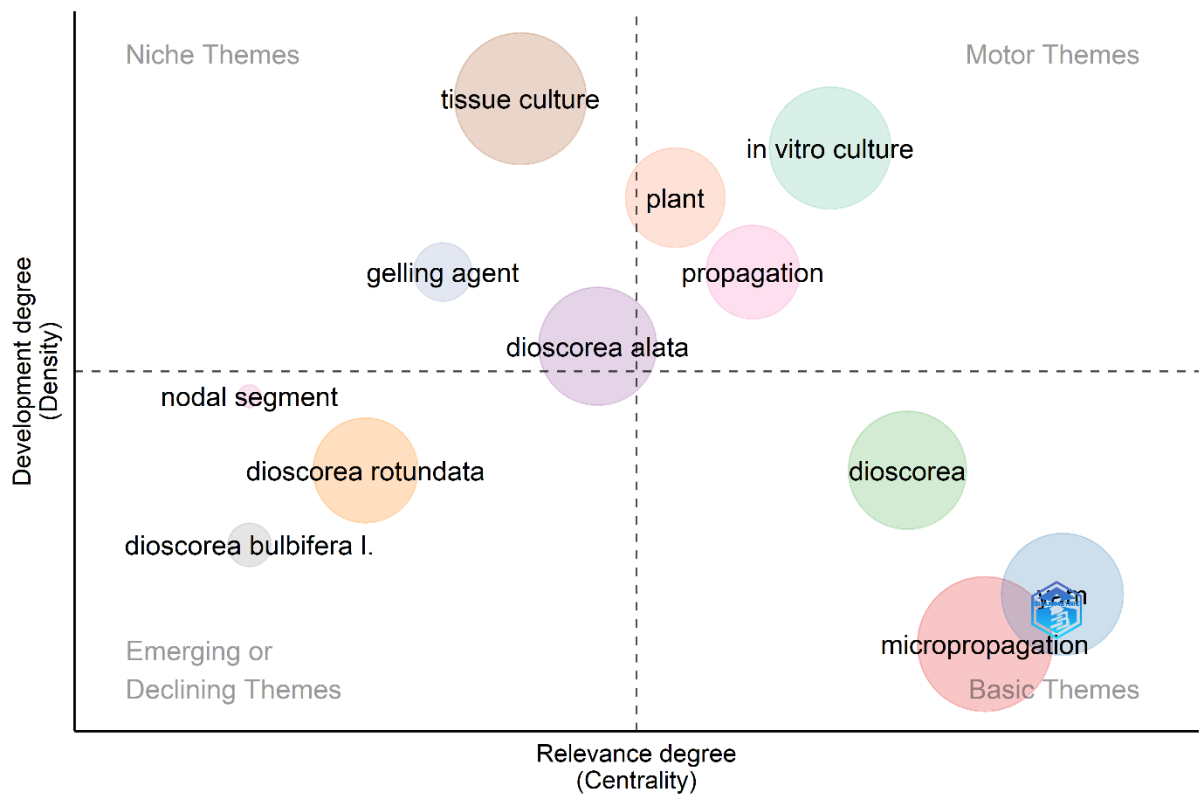


Figura 4: Mapa temático de publicações sobre propagação do gênero *Dioscorea*.

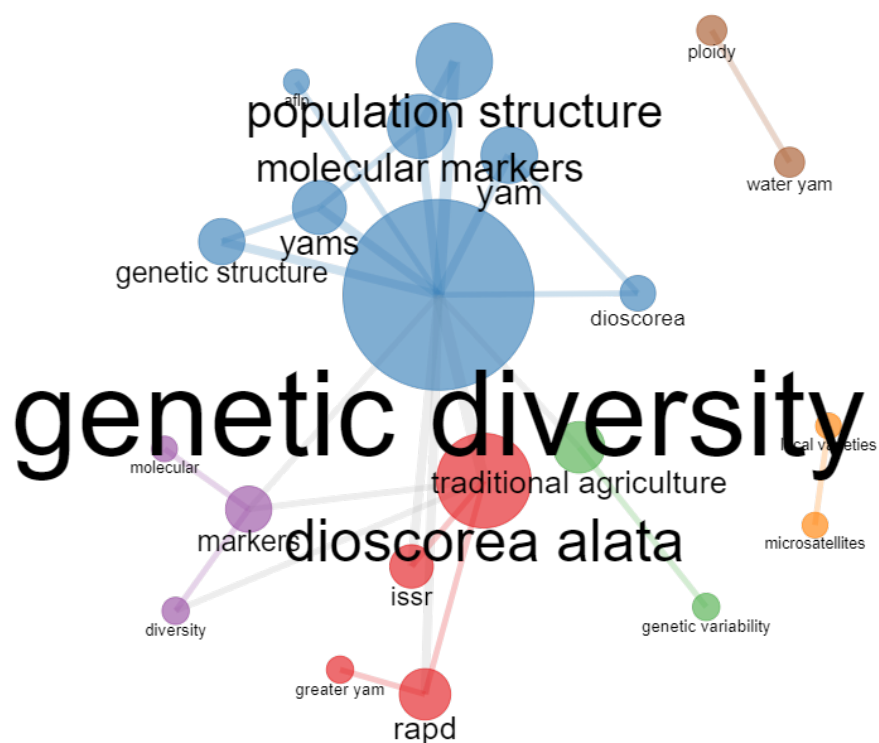


Figura 5: Coocorrência de palavras-chave de publicações sobre caracterização molecular do gênero *Dioscorea*.

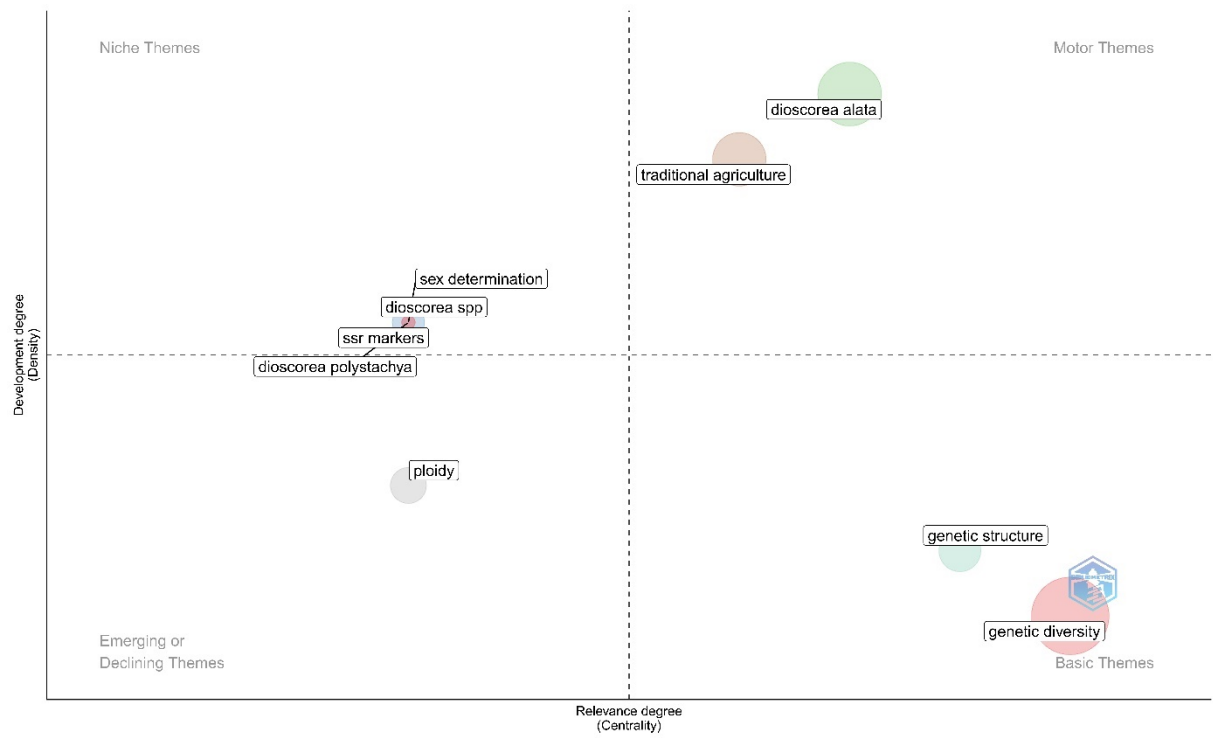


Figura 6: Mapa temático de publicações sobre caracterização molecular do gênero *Dioscorea*.

5. ARTIGO 2

TUBERIZAÇÃO *IN VITRO* DE INHAME (*DIOSCOREA* sp.): SACAROSE, ESPECTROS DE LUZ E REGULADORES DE CRESCIMENTO

Artigo formatado de acordo com as normas do periódico Scientia Plena (submetido)

RESUMO

Neste estudo, foram determinados os efeitos de diferentes concentrações de sacarose, espectros de luz e reguladores de crescimento na tuberização *in vitro* de inhame (*Dioscorea* sp.). O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições e quatro frascos por repetição. No primeiro ensaio, foram testadas três concentrações de sacarose (30, 60 e 90 g.L⁻¹) e quatro de ácido 1-naftaleno-acético (ANA) (0,0; 1,0; 2,0 e 4,0 mg.L⁻¹). Maior diâmetro (7,88 mm) e massa fresca (166,13 mg) foram obtidos ao aumentar a concentração de sacarose para 90 g.L⁻¹. No segundo ensaio, foram avaliados três espectros de luz LED (Branco, Azul e Vermelho), duas concentrações de ANA (0,0 e 1,0 mg.L⁻¹) e três de cinetina (CIN) (0,0; 1,0 e 2,0 mg.L⁻¹). A tuberização (%) apresentou maiores médias com a utilização das luzes azul (90,5%), vermelha (95,5%) ou com 2,0 mg.L⁻¹ de CIN (91,1%). O meio de cultivo sem ANA proporcionou maior número de microtubérculos por planta (1,67), assim como a utilização das luzes azul (1,65) ou vermelha (1,73), e de CIN nas concentrações 1,0 mg.L⁻¹ (1,58) ou 2,0 mg.L⁻¹ (1,68). Maiores médias de massa fresca de microtubérculo foram observadas com a utilização de 0,0 mg.L⁻¹ de CIN, 1,0 mg.L⁻¹ de ANA e com os espectros de luz azul (320,4 mg) e branco (276,9 mg). O aumento da concentração de sacarose, os espectros de luz azul e vermelho e reguladores de crescimento favorecem a tuberização *in vitro* de inhame.

Palavras-chave: Micropropagação, lâmpadas LED, carboidrato.

In this study, the effects of different sucrose concentrations, light spectrum, and growth regulators on *in vitro* tuberization of yam (*Dioscorea* sp.) were determined. The experimental design adopted was completely randomized, with five replications, and four bottles per replication. In the first test, three concentrations of sucrose (30, 60 and 90 g.L⁻¹) and four concentrations of naphthaleneacetic acid (NAA) (0.0; 1.0; 2.0 and 4.0 mg.L⁻¹) were tested. Higher diameter (7.88 mm) and fresh mass (166.13 mg) were obtained by increasing the sucrose concentration to 90 g.L⁻¹. In the second test, three LED light spectrums (White, Blue and Red), two concentrations of NAA (0.0 and 1.0 mg.L⁻¹) and three of kinetin (KN) (0.0; 1.0 and 2.0 mg.L⁻¹). Tuberization (%) showed higher averages with the use of blue (90.5 %), red (95.5 %) or with 2.0 mg.L⁻¹ of KN (91.1 %). The culture medium without NAA provided a greater number of microtubers per plant (1.67), as did the use of blue (1.65) or red (1.73) lights, and KN at concentrations of 1.0 mg.L⁻¹ (1.58) or 2.0 mg.L⁻¹ (1.68). Higher averages of fresh microtuber mass were observed with the use of 0.0 mg.L⁻¹ of KN, 1.0 mg.L⁻¹ of ANA and the blue (320.4 mg) and white (276.9 mg) light spectrums. The increase in sucrose concentration, light spectra and growth regulators favor *in vitro* tuberization of yam.

Keywords: Micropopagation, LED lamps, carbohydrate.

5.1. INTRODUÇÃO

A tuberização é um processo fisiológico que pode ser influenciado por diversos fatores, tais como fonte e concentração de carboidrato, reguladores de crescimento e intensidade de luz [1]. Em espécies que apresentam órgão de armazenamento, este pode ser induzido durante o cultivo *in vitro*, a partir de explantes nodais e apicais, produzindo microtubérculos [2], os quais

apresentam potencial para serem utilizados como material propagativo e para distribuição de material vegetal livre de patógenos em programas de intercâmbio de germoplasma [3].

A fonte de carboidrato no meio de cultivo contribui para a indução do processo de tuberização *in vitro* e a sacarose tem sido amplamente utilizada como a principal fonte [4]. Em estudos com espécies do gênero *Dioscorea*, o aumento da concentração de sacarose no meio de cultivo influenciou a indução e crescimento de microtubérculos [5, 6, 3].

Além da fonte de carboidrato, os reguladores de crescimento também são conhecidos por induzir a formação de microtubérculos. Sabe-se que as auxinas e citocininas possuem um papel importante durante a tuberização [1]. Em diferentes cultivares de batata (*Solanum tuberosum* L.), a auxina aumentou o tamanho dos microtubérculos, enquanto a citocinina aumentou o número de microtubérculos produzidos [7]. Em *Dioscorea nipponica*, a indução de microtubérculos foi aumentada quando combinado o ácido 1-naftaleno-acético (auxina) e a N-benziladenina (citocinina) [5]. Também foi relatado o efeito da 6-benzilaminopurina e da cinetina na tuberização de *Dioscorea deltoidea* [8].

A luz é outro fator importante que pode interferir na tuberização de várias espécies [9]. A iluminação artificial feita por meio de lâmpadas LED (*Light-Emitting Diode*) pode fornecer a quantidade e qualidade de luz necessária para o desenvolvimento das plantas, com espectro específico e menor demanda de energia [10]. Diferentes espectros de luz são reconhecidos por induzir a formação e crescimento de microtubérculos em batata (*Solanum tuberosum* L.) [11]. A luz LED vermelha é conhecida por acelerar a indução dos tubérculos, enquanto a luz azul pode atrasar o início da tuberização em batata [12].

O estudo destes fatores é de suma importância para viabilizar o processo de propagação para espécies produtoras de túberas, como o inhame. Pertencente ao gênero *Dioscorea*, o inhame (*Dioscorea* sp.) é considerado a quarta hortaliça tuberosa de maior importância no mundo [13]. Seus tubérculos comestíveis são importantes fontes de nutrientes, como vitaminas, cálcio e sais minerais [14], apresentando potencial uso industrial na produção de farinha e chips [15]. É uma cultura relevante para a região Nordeste do Brasil, a qual é responsável por aproximadamente 90% da produção nacional [16] e é fonte de renda, emprego e alimento para os agricultores da região [17].

É uma espécie de propagação vegetativa, realizada por meio de túberas-semente inteiras ou fragmentos destas [18]. No entanto, este método apresenta limitações, tais como dormência e baixo índice de brotação; risco de contaminação de áreas de cultivo por patógenos presentes na túbera [17] e alto custo de aquisição [19]. Diante deste contexto, observa-se a necessidade de buscar alternativas para melhorar a produção de mudas de inhame e a indução da tuberização *in vitro* pode se tornar uma fonte de microtubérculos para a propagação da cultura. Portanto, o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da sacarose, espectros de luz e reguladores de crescimento na tuberização *in vitro* de inhame para subsidiar a elaboração de protocolos de produção de microtubérculos.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Produção de mudas

Os inhames (*Dioscorea* sp.) para produção de mudas foram adquiridos na Central de Abastecimento de Sergipe (CEASA/SE). Foram mantidos em local seco e arejado até emitir brotação e, em seguida, segmentados e plantados em vasos de 10 L, contendo solo e esterco (3:1). As plantas obtidas foram mantidas em estufa agrícola e utilizadas como fonte de explantes para a realização dos experimentos, os quais foram retirados das ramas secundárias de plantas com idade de 120 dias.

5.2.2. Cultivo *in vitro*

5.2.2.1. Desinfestação dos explantes

Foram utilizados segmentos nodais de tamanho aproximado de 10 cm como explantes. Estes foram submetidos à desinfestação em água corrente e detergente neutro por 30 minutos. Na câmara de fluxo laminar, foram imersos em álcool etílico 70% durante 1 minuto e em solução de cloreto de mercúrio a 0,1% por 3 minutos, seguido de três lavagens em água destilada autoclavada.

5.2.2.2. Estabelecimento *in vitro*

Após a desinfestação, os explantes foram cortados em tamanho aproximado de 2 cm e inoculados em tubos de ensaio contendo 15 mL de meio MS [20], acrescido de 3,0 g.L⁻¹ de carvão ativado, 30 g.L⁻¹ de sacarose e 7 g.L⁻¹ de ágar, com pH ajustado para $5,8 \pm 0,1$. O meio de cultivo foi autoclavado a $121 \pm 1^\circ\text{C}$ e 1,05 atm por 15 minutos. Os explantes inoculados foram mantidos em sala de crescimento com temperatura controlada de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas e densidade de fluxo de fótons fotossintéticos de 40 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

5.2.3. Experimentos de tuberização *in vitro*

5.2.3.1. Experimento 1: Tuberização sob diferentes concentrações de sacarose e ácido 1-naftaleno-acético (ANA)

Plantas estabelecidas *in vitro*, com idade de 60 dias, foram transferidas para frascos contendo 30 mL de meio MS, acrescido de 1,5 g.L⁻¹ de carvão ativado e 7 g.L⁻¹ de ágar e suplementado de acordo com os tratamentos (concentrações de sacarose e ANA).

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x4, sendo três concentrações de sacarose (30; 60 e 90 g.L⁻¹) e quatro concentrações de ANA (0,0; 1,0; 2,0 e 4,0 mg.L⁻¹). Para cada tratamento, foram utilizadas cinco repetições, com quatro frascos contendo uma planta em cada.

5.2.3.2. Experimento 2: Tuberização sob diferentes espectros de luz e reguladores de crescimento

Para a realização do experimento, foram utilizados explantes de aproximadamente 2 cm. Estes foram inoculados em frascos contendo 30 mL de meio MS [20], acrescido de 3,0 g.L⁻¹ de carvão ativado, 90 g.L⁻¹ de sacarose e 7 g.L⁻¹ de ágar, com pH ajustado para $5,8 \pm 0,1$, e suplementado de acordo com os tratamentos.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x3x2, sendo três espectros de luz (Branca, Azul, Vermelha), três concentrações de cinetina (CIN) (0,0; 1,0 e 2,0 mg.L⁻¹) e duas concentrações de ANA (0,0 e 1,0 mg.L⁻¹). Foram utilizadas cinco repetições e quatro frascos por repetição, com um explante em cada.

Para os diferentes espectros de luz, foram utilizadas lâmpadas LEDs (*Light-Emitting Diode*) da marca G-light, de 9W. A densidade de fluxo de fótons fotossintéticos dentro da prateleira foi de 19,7 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, 11,56 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e 9,22 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ para as lâmpadas LED branca, azul e vermelha, respectivamente.

5.2.4. Variáveis analisadas

Após 60 dias do início dos ensaios, foram avaliados a porcentagem de tuberização (%), o número de microtubérculos por planta, o diâmetro (mm) e a massa fresca (mg) dos

microtubérculos. A porcentagem de tuberização foi calculada pela presença ou ausência de microtubérculo por planta. O diâmetro foi medido com o auxílio de um paquímetro digital e a massa fresca foi obtida com o auxílio de uma balança analítica com precisão de 0,1 mg.

Os dados obtidos nos dois experimentos foram submetidos à análise de variância. Para o primeiro experimento, as médias do fator sacarose foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e as do fator ANA foram ajustadas pelos modelos de regressão polinomial. Para o segundo experimento, as médias dos fatores espectros de luz, ANA e CIN foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A análise foi realizada com o auxílio do programa estatístico SISVAR® [21].

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tuberização sob diferentes concentrações de sacarose e ácido 1-naftaleno-acético (ANA)

Houve interação significativa entre os fatores concentrações de sacarose e ANA para porcentagem de tuberização (Figura 1). Ao utilizar 30 g.L⁻¹ de sacarose, observou-se modelo quadrático, com menor porcentagem de tuberização (78,92%) obtida na concentração de 2,2 mg. L⁻¹ de ANA. Para o meio de cultivo com 60 g.L⁻¹ de sacarose, observou-se modelo linear decrescente, em que a porcentagem de tuberização diminuiu com o aumento da concentração de ANA (Figura 1). Os modelos de regressão polinomial não foram significativos com o uso da concentração de 90 g.L⁻¹ de sacarose (Figura 1).

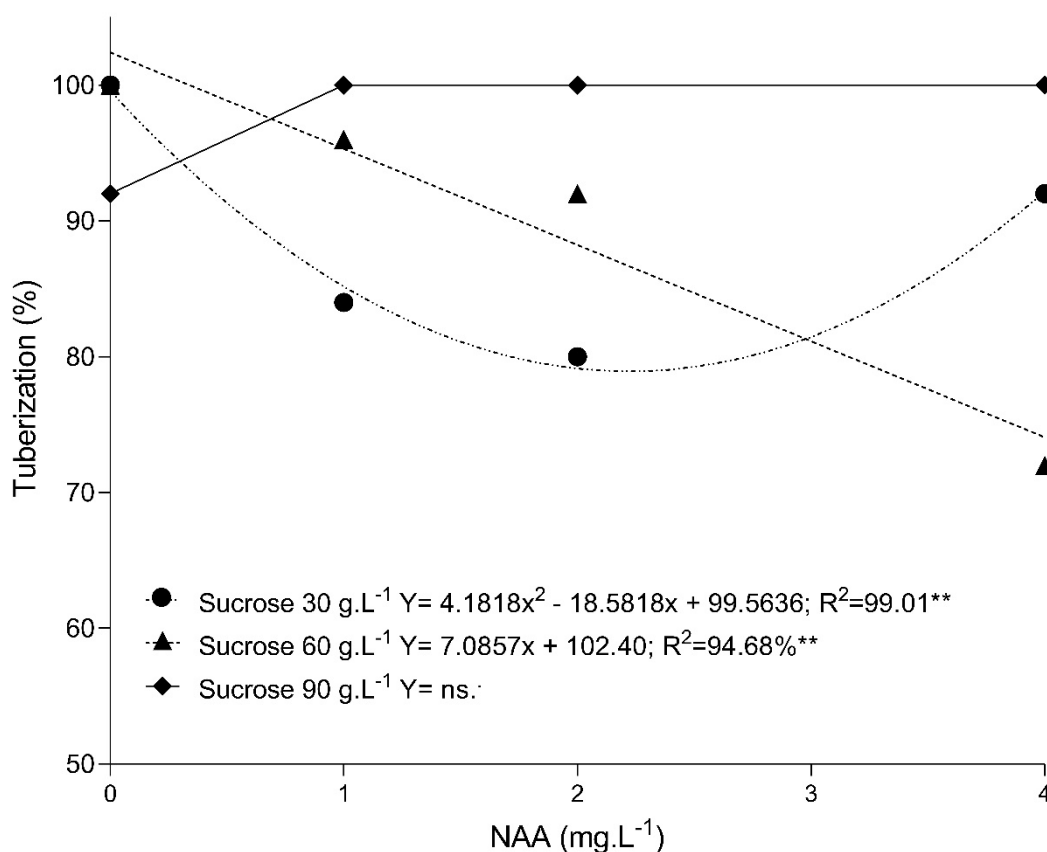


Figura 1: Porcentagem de tuberização in vitro de Dioscorea sp. em função das concentrações de ANA e sacarose.

A sacarose e a auxina ANA são conhecidas por favorecerem a indução da tuberização *in vitro* [5]. No presente estudo, apresentaram um efeito conjunto na porcentagem de tuberização. Observou-se menor tuberização (78,92%) no meio de cultivo com 30 g.L⁻¹ de sacarose e com

2,2 mg.L⁻¹ de ANA. Resultados semelhantes foram obtidos com *Dioscorea hirtiflora*, em que o uso de uma concentração de ANA de 2,5 mg.L⁻¹ proporcionou 80% de tuberização, em um meio de cultivo com 3% de sacarose [22]. As diferentes concentrações de ANA avaliadas não influenciaram a porcentagem de tuberização ao aumentar a concentração de sacarose para 90 g.L⁻¹. Uma maior concentração de sacarose no meio de cultivo parece ser um sinal para a indução da tuberização [4], tendo sido relatado que o aumento da concentração de sacarose para 80 g.L⁻¹ proporcionou maior porcentagem de tuberização em plantas de batata cultivadas *in vitro* [6].

As concentrações de sacarose testadas apresentaram diferença significativa para as variáveis número de microtubérculos por planta, diâmetro e massa fresca de microtubérculos. No entanto, não foi observado efeito significativo para estas variáveis para as diferentes concentrações de ANA testadas (Tabela 1).

Em todas as concentrações de sacarose avaliadas, houve a formação de pelo menos um microtubérculo por planta. No entanto, o maior número de microtubérculos por planta foi observado para as concentrações de sacarose 60 e 90 g.L⁻¹, com médias de 1,60 e 1,73, respectivamente (Tabela 1). O aumento da suplementação do meio de cultivo para 90 g.L⁻¹ de sacarose também proporcionou microtubérculos com maior diâmetro (7,88 mm) e massa fresca (166,13 mg) (Tabela 1).

Tabela 1: Número de microtubérculos por planta, diâmetro e massa fresca de microtubérculos de Dioscorea sp. sob diferentes concentrações de sacarose e ácido 1-naftaleno-acético (ANA).

Sacarose (g.L ⁻¹)	Número de microtubérculos por planta	Diâmetro de microtubérculos (mm)	Massa fresca de microtubérculos (mg)
30	1,34 b	6,15 c	64,88 c
60	1,60 a	7,04 b	124,75 b
90	1,73 a	7,88 a	166,13 a
ANA (mg.L⁻¹)			
0,0	1,5	6,8	119,2
1,0	1,6	6,9	119,8
2,0	1,6	7,2	119,7
4,0	1,5	7,0	115,7
Equação (Y)	ns	ns	ns
CV (%)	16,8	9,69	23,7

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns – não significativo; CV – coeficiente de variação.

O maior fornecimento de sacarose ao meio de cultivo parece favorecer os sinais de indução e formação de microtubérculos [4], aumentando a produção de microtubérculos de inhame, além da massa e diâmetro destes. Para *Dioscorea alata*, o aumento da concentração para 6 e 8% de sacarose no meio de cultivo favoreceu a produção de um maior número de microtubérculos por explante [3]. Provavelmente, a sacarose fornece ao meio de cultivo carbono e energia necessários para a iniciação e crescimento dos microtubérculos [5]. Além disso, o aumento da concentração de sacarose favorece o aumento da osmolaridade do meio, culminando com a indução do órgão de armazenamento devido ao estresse induzido [23].

Em ensaios com *Diocorea nipponica*, observou-se que o aumento da concentração de sacarose no meio de cultivo para 7% elevou a produção de microtubérculos com maior massa fresca [5]. Resultados semelhantes foram obtidos com *Dioscorea deltoidea*, em que o aumento da suplementação de sacarose proporcionou maior número, massa fresca e comprimento de microtubérculos [8]. Portanto, a sacarose parece desenvolver um duplo efeito na tuberização *in vitro*: como sinal para iniciação deste processo e como substrato nutritivo para o desenvolvimento dos microtubérculos [7].

Tuberização sob diferentes espectros de luz e reguladores de crescimento

Os resultados do experimento com diferentes espectros de luz e os reguladores de crescimento ANA e CIN estão apresentados nas Tabelas 2 e 3. Os diferentes espectros de luz e as concentrações de CIN apresentaram diferença significativa para a variável porcentagem de tuberização. Para a variável número de microtúbérculo por planta, os três fatores avaliados (espectros de luz e concentrações de CIN e ANA) apresentaram efeito significativo. Para a variável diâmetro de microtúbérculo, apenas o fator espectros de luz foi significativo.

Mais de 90% das plantas tuberizaram quando mantidas nos espectros de luz azul e vermelho, enquanto na luz branca, em média 60% apresentaram tuberização (Tabela 2). O maior número de microtúbulos por planta também foi obtido ao utilizar os espectros de luz azul e vermelho (1,65 e 1,73, respectivamente) e a menor média foi observada com a luz branca (1,33). O maior diâmetro de microtúbérculo (5,23 mm) foi obtido ao utilizar luz branca, não diferindo estatisticamente da luz azul (5,02 mm) (Tabela 2).

Tabela 2: Porcentagem de tuberização, número e diâmetro de microtúbérculo de Dioscorea sp. em função do espectro de luz, ácido 1-naftaleno-acético (ANA) e cinetina (CIN).

	Tuberização (%)	Número de microtúbulos por planta	Diâmetro de microtúbulos (mm)
Espectro de luz			
Branca	63,3 b	1,33 b	5,23 a
Azul	90,5 a	1,65 a	5,02 ab
Vermelha	95,5 a	1,73 a	4,51 b
Cinetina (mg.L⁻¹)			
0,0	81,6 ab	1,43 b	5,06 a
1,0	91,1 a	1,58 ab	4,91 a
2,0	76,6 b	1,68 a	4,79 a
ANA (mg.L⁻¹)			
0,0	86,2 a	1,67 a	5,02 a
1,0	80,0 a	1,46 b	4,82 a
CV (%)	25,18	24,35	22,09

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV – Coeficiente de variação.

Os espectros de luz azul e vermelho vêm sendo estudados por serem facilmente absorvidos pelas plantas e têm apresentado diferentes respostas de acordo com a espécie [24]. Uma dessas repostas é a indução de tuberização, corroborando com o observado neste estudo, em que os espectros de luz azul e vermelho promoveram uma maior porcentagem de tuberização. O efeito desses espectros de luz foi avaliado para batata (*Solanum tuberosum*) e observou-se que a luz azul promoveu a formação precoce e um aumento no número de microtúbérculo por planta [25] e, sob o aumento da luz vermelha extrema, observou-se iniciação acelerada da tuberização [12]. Também em batata a combinação entre luzes LED vermelha e azul, na proporção 3:1, favoreceu a tuberização *in vitro*, aumentando o número de microtúbulos produzidos [26].

A luz branca proporcionou uma menor porcentagem de tuberização e número de microtúbulos por planta que, no entanto, apresentaram maior diâmetro (5,23 mm). A utilização da luz azul proporcionou diâmetro médio de microtúbérculo estatisticamente igual ao da luz branca, além de proporcionar maior porcentagem de tuberização e número de microtúbulos formados. Já com a utilização da luz vermelha, que apresentou a maior

tuberização e número de microtubérculos, observou-se menor média para diâmetro (4,51 mm) (Tabela 2). A produção de microtubérculos maiores pode ser importante para utilizá-los como material propagativo, por conter mais reserva para gerar plantas mais vigorosas [1]. Por outro lado, a luz vermelha pode proporcionar uma maior quantidade total de microtubérculos produzidos, aumentando o rendimento total.

Isso pode ser explicado pelo fato da luz vermelha estar relacionada ao alongamento do caule, podendo gerar um acúmulo dos produtos fotossintéticos principalmente na parte aérea da planta [27]. Em batata (*Solanum tuberosum* L.) a luz vermelha extrema foi responsável pelo aumento no número de tubérculos, o que favoreceu o aumento do rendimento total por planta [9].

Ao utilizar a concentração de 1,0 mg.L⁻¹ de CIN, observou-se uma maior porcentagem de tuberização (91,1%), a qual foi estatisticamente igual ao tratamento que não utilizou CIN (81,6 %) (Tabela 2). A suplementação do meio de cultivo com 2,0 mg.L⁻¹ de CIN proporcionou maior número de microtubérculos por planta (1,68) que foi estatisticamente igual ao resultado observado para a concentração 1,0 mg.L⁻¹ (1,58). Para diâmetro de microtubérculo, as concentrações de CIN avaliadas não diferiram estatisticamente (Tabela 2).

A utilização de CIN no meio de cultivo proporcionou aumento do número de microtubérculos formados. Em estudo sobre fatores que afetam a tuberização de batata *in vitro*, demonstrou-se que a CIN atuou na iniciação dos tubérculos quando utilizada à concentração de 2,5 mg.L⁻¹ em meio com alto teor de sacarose (90 g.L⁻¹) [4]. Também foi demonstrado que esta atua principalmente no aumento do número de tubérculos, devido ao seu efeito no alongamento celular [7].

O meio de cultivo sem a adição de ANA proporcionou o maior número de microtubérculos por planta (1,67), enquanto para porcentagem de tuberização e diâmetro de microtubérculos as diferentes concentrações de ANA não diferiram estatisticamente (Tabela 2). O ANA foi relatado como uma auxina que poderia estimular a divisão celular, levando ao aumento do volume das células e microtubérculos gerados [28]. No entanto, a resposta à tuberização varia devido à concentração hormonal aplicada ao meio de cultivo [29]. No caso deste experimento, as concentrações de ANA utilizadas não produziram resposta para indução da tuberização.

Houve interação tripla entre os fatores espectros de luz, concentrações de ANA e de CIN para massa fresca de microtubérculo (Tabela 3). Maiores médias foram observadas para os espectros de luz branca e azul (320,4 e 276,8 mg, respectivamente) sem adição de CIN (0,0 mg.L⁻¹) e com 1,0 mg.L⁻¹ de ANA. As médias de massa fresca de microtubérculos foram estatisticamente iguais para os três espectros de luz sem a adição de ANA (0,0 mg.L⁻¹) e de CIN (0,0 mg.L⁻¹) ao meio de cultivo. A utilização da luz azul proporcionou média superior à da luz vermelha e estatisticamente igual à da luz branca quando foi utilizado 1,0 mg.L⁻¹ de CIN e 0,0 (161,8 e 218,8 mg, respectivamente) ou 1,0 mg.L⁻¹ (150,4 e 276,8 mg) de ANA. Na ausência de ANA, a luz vermelha foi superior à azul e estatisticamente igual à branca na concentração de 2,0 mg.L⁻¹ de CIN (185,4 e 164,8 mg, respectivamente). Finalmente, a utilização de 1,0 mg.L⁻¹ de ANA e 2,0 mg.L⁻¹ de CIN proporcionou maior média quando associada à luz azul (189,1 mg).

A ausência de ANA (0,0 mg.L⁻¹) proporcionou maiores médias de massa fresca com a utilização de luz vermelha e 0,0 mg.L⁻¹ de CIN (222,1 mg) e para as luzes branca (164,8 mg) e vermelha (185,4 mg) com 2,0 mg.L⁻¹ de CIN (Tabela 3). As concentrações de ANA avaliadas foram estatisticamente iguais para os espectros de luz avaliados com a utilização de 1,0 mg.L⁻¹ de CIN.

Considerando as concentrações de CIN utilizadas, a utilização de 0,0 mg.L⁻¹ e 1,0 mg.L⁻¹ de CIN proporcionou maiores médias de massa fresca quando foi utilizada a luz azul para a concentração de 0,0 mg.L⁻¹ de ANA (192,2 e 218,8 mg, respectivamente); e, para a concentração 0,0 mg.L⁻¹ de CIN, com a utilização de 1,0 mg.L⁻¹ de ANA, observou-se maior média para a luz branca (320,4 mg) (Tabela 3). As diferentes concentrações de CIN foram estatisticamente iguais ao utilizar luz branca e 0,0 mg.L⁻¹ de ANA e luz vermelha e 1,0 mg.L⁻¹ de ANA. A concentração 0,0 mg.L⁻¹ de CIN foi superior a 2,0 mg.L⁻¹ e estatisticamente igual a

1,0 mg.L⁻¹, ao utilizar luz azul e 1,0 mg.L⁻¹ de ANA. A concentração 0,0 mg.L⁻¹ de CIN foi superior a 1,0 mg.L⁻¹ e estatisticamente igual a 2,0 mg.L⁻¹, ao utilizar luz vermelha e 0,0 mg.L⁻¹ de ANA (Tabela 3).

Tabela 3: Massa fresca de microtubérculos (mg) de *Dioscorea* sp. em função dos espectros de luz e das diferentes concentrações de ácido 1-naftaleno-acético (ANA) e cinetina (CIN).

Espectro de luz	ANA (mg.L ⁻¹)	
	0,0	1,0
	Cinetina (0,0 mg.L⁻¹)	
Branca	158,1 a B α	320,4 a A α
Azul	192,2 a B α	276,9 a A α
Vermelha	222,1 a A α	127,8 b B α
	Cinetina (1,0 mg.L⁻¹)	
Branca	161,8 ab A α	150,4 ab A β
Azul	218,8 a A α	228,1 a A αβ
Vermelha	110,1 b A β	147,5 b A α
	Cinetina (2,0 mg.L⁻¹)	
Branca	164,8 ab A α	89,9 b B β
Azul	106,8 b B β	189,1 a A β
Vermelha	185,4 a A αβ	102,7 b B α
CV (%)	29,52	

Médias seguidas da mesma letra minúscula, na coluna, maiúscula, na linha, e grega, entre concentrações de cinetina, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV – Coeficiente de variação.

Fatores como espectro de luz, citocininas e auxinas, são conhecidos por influenciar o processo de tuberização [1]. No caso deste trabalho, tais fatores tiveram um efeito conjunto para a variável massa fresca dos microtubérculos formados. Observou-se que não houve diferença significativa para a massa fresca entre os espectros de luz sem a adição de ANA e CIN. Neste caso, a utilização dos reguladores de crescimento parece ter sido importante para o aumento da massa dos microtubérculos, o que foi observado para *Dioscorea alata*. Para esta espécie, o uso de reguladores de crescimento como ANA no meio de cultivo estimulou o crescimento dos microtubérculos, enquanto as citocininas CIN, BA e zeatina produziram microtubérculos com menores massas frescas [30]. Isso pode estar associado ao papel destes reguladores, visto que a CIN permite a divisão celular, enquanto o ANA regula o crescimento de órgãos [8]. No cultivo *in vitro* de mandioca, o sinergismo entre BA e ANA foi favorável para o crescimento das raízes tuberosas, quando em concentrações adequadas no meio de cultivo [32]. O peso fresco dos microtubérculos de *Dioscorea deltoidea* aumentaram com altas concentrações de ANA para 2,0 mg.L⁻¹ e com 1,0 mg.L⁻¹ da citocinina BA [5].

Maiores médias de massa fresca de microtubérculos foram observadas na luz branca ou azul, com a adição de 1,0 mg.L⁻¹ de ANA e sem a presença de CIN. Os espectros de luz azul e branca apresentam efeito no crescimento e aumento de massa fresca de microtubérculos de batata [11, 26]. A luz azul produz aumento nos teores de açúcar e amido durante o processo de tuberização, favorecendo o acúmulo de biomassa nos microtubérculos [31].

A utilização de 90 g.L⁻¹ de sacarose, 1 mg.L⁻¹ de CIN, 1 mg.L⁻¹ de ANA e o espectro de luz azul parece favorecer a produção de microtubérculos de inhame. Alterações hormonais são observadas durante a indução e iniciação da tuberização. A auxina contribui para o aumento do tubérculo e a citocinina com o número produzido, sendo a resposta a esses hormônios dependente da concentração de sacarose no meio de cultivo. Após a indução, é notado o aumento da fotossíntese e do transporte de carboidratos para os tubérculos em formação. Portanto, o aumento do fornecimento de sacarose é necessário para a biossíntese de amido e consequente crescimento do tubérculo [1]. A luz azul é utilizada pelos estômatos como sinal

para abertura, uma resposta sensorial que permite a entrada de CO₂ na folha. Acredita-se que, após a percepção dos estímulos pelo fitocromo presente nas folhas, o sinal é enviado pelos hormônios vegetais. Esse sinal inicia a divisão celular, expansão e orientação do crescimento celular, que dará origem ao novo órgão [33].

5.4. CONCLUSÕES

O aumento da concentração de sacarose no meio de cultivo favorece a tuberização *in vitro* de inhame. Os espectros de luz e diferentes concentrações de reguladores de crescimento avaliados interferem na indução e rendimento dos microtubérculos.

O meio de cultivo MS suplementado com 90 g.L⁻¹ de sacarose, 1 mg.L⁻¹ de cinetina e 1 mg.L⁻¹ de ácido 1-naftaleno-acético e cultivo sob o espectro de luz azul contribuem para a produção de microtubérculos de inhame.

5.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kerbaudy GB. Fisiologia Vegetal. 3. ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan; 2019.
2. Ovono PO, Kevers C, Dommes J. Effects of storage conditions on sprouting of microtubers of yam (*Dioscorea cayenensis* – *D. rotundata* complex). Comp. Rendus Biol. 2010;28-34.
3. Corria MG, Escalona M, Meneses S. Efecto de la concentración de sacarosa y de reguladores del crecimiento en la tuberización *in vitro* de *Dioscorea alata* L. variedad Cartagena. Biotec. Veg. 2018;4(4):243-246.
4. Mohamed AE, Girgis ND. Factors affecting in vitro tuberization of potato. Bull. of the Natio. Resear. Centre. 2023 47(80): 1-10, doi:10.1186/s42269-023-01056-3
5. Chen FQ, Wang DL, Gao X, Whang L. The effect of plant growth regulators and sucrose on the micropropagation and microtuberization of *Dioscorea nipponica* Makino. J. Plant Growth Regul. 2007 Feb;26:38-45, doi: 10.1007/s00344-005-0147-2
6. Al-Hussaini ZA, Yousif SH, Al-Ajeely SA. The role of sucrose and light duration on *in vitro* tuberization for cultivars of Potato *Solanum tuberosum* L. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2015;4(2):277-283.
7. Ramanov GA, Aksenova NP, Konstatinova TN, Golyanovskaya SA, Kossamann J, Willmitzer L. Effect of indole-3-acetic acid and kinetin on tuberization parameters of different cultivars and transgenic lines of potato *in vitro*. Plant Grow. Reg. 2000;32:245-251.
8. Nazir R, Gupta S, Kumar V, Yousuf M, Gupta AP, Shekhawat MS, Goyal P, Pandey DK. *In vitro* tuberization, genetic, and phytochemical fidelity assessment of *Dioscorea deltoidea*. Ind. Crops Prod. 2022 Jan;175:114174, doi: 10.1016/j.indcrop.2021.114174
9. Stockem JE, Vries ME, Struik PC. Shedding light on a hot topic: Tuberisation in potato. Annals of App. Bio. 2023 May;183:170-180, doi:10.1111/aab.12844
10. Rahman MH, Azad MOK, Islam MJ, Rana MS, Li K, Lim YS. Production of potato (*Solanum tuberosum* L.) seed tuber under artificial LED light irradiation in plant factory. Plants. 2021 Feb;10(297):1-15, doi:10.3390/plants10020297
11. Cope KR, Snowden MC, Bugbee B. Photobiological interactions of blue light and photosynthetic photon flux: effects of monochromatic and broadspectrum light sources. Photoc. and Photob. 2014;90:574-584.
12. Plantenga FDM, Siakou M, Bergonzi S, Heuvelink E, Bachem CWB, Visser RGF, Marcelis LFM. Regulating flower and tuber formation in potato with light spectrum and day length. Acta Hort. 2016;1134:267-275.
13. FAO. Faostat; 2021. [citado em 02 set 2023]. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
14. Oliveira AP, Bandeira NVS, Dantas DFS, Silva JA, Dantas TAG. Produtividade máxima e econômica do inhame em função de doses de potássio. Rev. Caat. 2013;26(3):1110-1156.
15. Andres C, Adeoluwa OO, Bhullar GS. Yam (*Dioscorea* spp.). Encyc. of appl. plant scien. 2017;3:435-441, doi: 10.1016/B978-0-12-394807-6.00177-5
16. Silva JA, Oliveira AP, Alves GS, Cavalcante LF, Oliveira ANP, Araújo MAM. Rendimento do inhame adubado com esterco bovino e biofertilizante no solo e na folha. Rev. Bras. de Eng. Agríc. e Amb. 2012;16:253-257.
17. Santos ES, Fontinelli ISC, Lacerda JT, Matias EC, Barbosa MM. Sistema alternativo de produção de sementes de inhame (*Dioscorea* sp.). Tecn. e Ciên. Agrop. 2007;1(2):19-24.
18. Borges-García M, Gómez-Kosky R, Abeal EE, Avalos DR, Malaurie B, Batista RD. Respuesta em campo de plantas *in vitro* de *Dioscorea alata* L. clon “Caqueño” em distintos momentos de plantación. Biotecnol. Veg. 2015;15:137-142.

19. Santos CA, Sá HCM, Moreira MA. Análise do custo de produção e sensibilidade econômica e financeira na cultura de inhame (*Dioscorea* sp.) no município de Malhador-SE. *Empreen. Gestão e Neg.* 2021 Mar;10(10):432-443.
20. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physio. Plan.* 1962;15:473-497.
21. Ferreira DF. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciên. e Agrotec.* 2011;35(6):1039-1042.
22. Adeniran AA, Sonibare MC, Rajacharya GH, Kumar S. Assessment of genetic fidelity of *Dioscorea bulbifera* L. and *Dioscorea hirtiflora* Benth. and medicinal bioactivity produced from the induced tuberous roots. *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 2018 Nov;132:343-357, doi:10.1007/s11240-017-1334-0
23. Ascough GD, Erwin JE, Staden JV. Reduced temperature, elevated sucrose, continuous light and gibberellic acid promote corm formation in *Watsonia vanderspuyiae*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2008 Aug;95:275-283, doi:10.1007/s11240-008-9441-6
24. Hernández R, Kubota C. Physiological responses of cucumber seedlings under different blue and red photon flux ratios using LEDs. *Envi. and Exper. Bot.* 2016;121:66-74, doi:10.1016/j.envexpbot.2015.04.001.
25. Chang H, Wang YP, Wang D, Zhang F. Effects of light quality on microtuber induction of *Solanum tuberosum* L. *Nat. Lib. Med.* 2009 Aug;20(8):1891-1895.
26. Chen L, Xue X, Yang Y, Chen F, Zhao J, Wang X, Khan AT, Hu Y. Effects of red and blue LEDs on *in vitro* growth and microtuberization of potato single-node cuttings. *Front. Agr. Sci. Eng.* 2018 May;1-9, doi:10.15302/J-FASE-2018224
27. Jiang L, Wang Z, Jin G, Lu D, Li X. Responses of favorita potato plantlets cultured *in vitro* under fluorescent and light-emitting diode (LED) light sources. *Amer. Jour. of Pot. Resear.* 2019 May;96:396-402, doi:10.1007/s12230-019-09725-8
28. Xue T, Guo L, Xue J, Song Y, Lu H, Zhang A. Study of the system of tuberous root induction *in vitro* from *Rehmannia glutinosa*. *Afri. Jour. of Biot.* 2012 Apr;11(28):7202-7207, doi:10.5897/AJB12.075
29. Manoharan R, Tripathi JN, Tripathi L. Plant regeneration from axillary bud derived callus in white yam (*Dioscorea rotundata*). *Plant Cell Tissue Cult.* 2016 Jun;126:481-497, doi:10.1007/s11240-016-1017-2
30. John JL, Courtney WH, Decoteau DR. The influence of plant growth regulators and light on microtuber induction and formation in *Dioscorea alata* L. cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Cult.* 1993 Mar;34:245-252.
31. Li R, Long J, Yan Y, Luo J, Xu Z, L X. Addition of white light to monochromatic red and blue lights alters the formation, growth, and dormancy of *in vitro*-growth *Solanum tuberosum* L. microtubers. *HortS.* 2019;19:45-49.
32. Fan M, Liu Z, Zhou L, Lin T, Liu Y, Luo L. Effects of plant growth regulators and saccharide on *in vitro* plant and tuberous root regeneration of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *J. Plant Growth Regul.* 2011 Jun;30:11-19, doi 10.1007/s00344-010-9163-y
33. Taiz L, Zeiger E, Moller IM, Murphy A. *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*. 6ª ed. Artmed, 2017.858p.

6. ARTIGO 3

DIVERSIDADE GENÉTICA DE INHAME (*Dioscorea* sp.) POR MEIO DE MARCADORES MORFOLÓGICOS E MOLECULARES

Artigo formatado de acordo com as normas do periódico Genetic Resources and Crop Evolution

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a diversidade genética de genótipos de *Dioscorea* sp. provenientes de estados do Nordeste brasileiro (Sergipe, Bahia, Alagoas e Paraíba), por meio da marcadores morfológicos e moleculares. Para isso, foram coletados 52 genótipos de inhame em locais de comercialização e diretamente de produtores rurais. Para a caracterização morfológica, foram utilizados 31 descritores morfológicos para a cultura do inhame. Observou-se que o coeficiente de variação ambiental (CV_e) da maioria dos descritores avaliados foi maior do que o coeficiente de variação genética (CV_g) e que houve herdabilidade alta apenas para a cor do caule (86,86%). A maior correlação positiva significativa foi entre presença de tubérculo e presença de raiz na superfície do tubérculo ($r = 1$; $p < 0,001$). Os genótipos foram agrupados em sete grupos distintos com base nos descritores morfológicos avaliados. Para a caracterização molecular, foram utilizados primers SSR (9) e ISSR (16). Os primers utilizados foram considerados informativos, apresentando alto conteúdo de informação polimórfica e 100% das bandas foram polimórficas. A diversidade genética foi estimada pelos parâmetros número de alelo (2,00), número efetivo de alelo (1,30), heterozigosidade esperada (0,211) e índice de Shannon (0,351). Os 52 genótipos foram agrupados em sete grupos conforme a distância de Jaccard. A estrutura genética da população em $K=2$ revela o compartilhamento de alelos entre os genótipos de diferentes origens geográficas. A caracterização morfológica e molecular revela a existência de alta diversidade genética entre os 52 genótipos de *Dioscorea* sp. e baixa diversidade entre os locais de coleta.

Palavras-chave: conservação genética, fenótipo, SSR, ISSR, germoplasma.

ABSTRACT

The objective of the present study was to assess the genetic diversity of *Dioscorea* sp. genotypes from several states in northeastern Brazil (Sergipe, Bahia, Alagoas, and Paraíba) through morphological and molecular characterization. For this, 52 yam genotypes were collected from marketplaces and directly from rural producers. Thirty-one morphological descriptors for yam cultivation were used for morphological characterization. It was observed that the CV_e were higher than the CV_g for most of the evaluated descriptors, with high heritability observed only for stem color (86.86%). The highest significant positive correlation was found between tuber presence and surface root presence on the tuber ($r = 1$; $p < 0.001$). Genotypes were grouped into seven distinct clusters based on the evaluated morphological descriptors. For molecular characterization, SSR (9) and ISSR (16) primers were used. The used primers were considered informative, displaying a high content of polymorphic information and 100% of the bands were polymorphic. Genetic diversity was estimated by the parameters number of alleles (2.00), effective number of alleles (1.30), expected heterozygosity (0.211), and Shannon's index (0.351). The 52 genotypes were grouped into seven clusters based on Jaccard's distance. The population's genetic structure at $K=2$ revealed allele sharing among genotypes from different geographical origins. Morphological and molecular characterization indicates high genetic diversity among the 52 *Dioscorea* sp. genotypes and low diversity among locations of collection.

Keywords: genetic conservation, phenotype, SSR, ISSR, germplasm

6.1. Introdução

O inhame (*Dioscorea* sp.), devido ao alto teor de carboidrato dos seus tubérculos, é considerada uma cultura de segurança alimentar para vários países (Rao et al. 2020). É uma planta dióica (Norman et al. 2021) e com taxa de floração baixa ou inexistente em cultivos comerciais (Mondo et al. 2020). Assim, a principal forma de propagação da cultura adotada pelos produtores é a vegetativa (Borges-García et al. 2018).

No Brasil, os agricultores familiares têm sofrido com pressões econômicas, tais como o avanço de monocultivos e a falta de investimentos de setores públicos e privados, que provocaram uma redução das atividades agrícolas, levando à perda da diversidade genética das espécies de inhame (Siqueira 2011). Neste sentido, há uma necessidade de estudos para estimar a diversidade genética que é gerida por esses agricultores e desenvolver estratégias para a conservação e manutenção de variedades tradicionais que são uma importante fonte de alelos para várias características agronômicas desejáveis, tais como resistência a pragas e patógenos e tolerância aos fatores abióticos (Nascimento et al. 2015). Assim, estimar a diversidade genética de germoplasma de inhame provenientes de diferentes origens geográficas para fins de cultivo é importante para a conservação e uso dos recursos genéticos nas regiões produtoras (Adjei et al. 2023).

Os estudos de diversidade genética do inhame baseiam-se principalmente em marcadores morfológicos e moleculares (Adjei et al. 2023). Os marcadores morfológicos comumente utilizados para espécies do gênero *Dioscorea* são formato, cor, comprimento e largura da folha; presença de asa; cor da casca, da polpa e peso do tubérculo, utilizadas na caracterização morfológica de diferentes (Wu et al. 2019; Cao et al. 2021; Chen et al. 2022).

Apesar da importância para caracterização de germoplasma, as características fenotípicas apresentam a limitação de estarem sujeitas às variações ambientais (Cao et al. 2021). Uma alternativa para mitigar este problema é a associação de marcadores morfológicos e moleculares (Agre et al. 2021). Dentre os marcadores que têm sido utilizados em estudos de diversidade genética para o gênero *Dioscorea* estão o SSR (*Simple Sequence Repeat*) e o ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*). Marcadores SSR têm sido utilizados para estudos genéticos de germoplasma de inhame, sendo considerados informativos e apresentando alto poder de discriminação (Loko et al. 2016; Girma et al. 2017; Chen et al. 2022; Kalu et al. 2022). Os marcadores ISSR também permitiram detectar alto nível de polimorfismo para a espécie *Dioscorea alata* L. (83,62%) (Castañeda-Cardona et al. 2020) e para 21 raças locais de *Dioscorea* spp. (93,5%) da China (Wu et al. 2014).

Portanto, considerando a importância social e econômica da cultura e a necessidade de mais informações sobre os recursos genéticos de inhame geridos pelos agricultores, objetivou-se com este estudo avaliar a diversidade genética de genótipos de *Dioscorea* sp., provenientes de alguns estados do Nordeste brasileiro, por meio da caracterização morfológica e molecular.

6.2. Material e Métodos

6.2.1. Coleta do material vegetal

Um total de 52 genótipos de inhame foram utilizados no presente estudo, adquiridos em feira livre, mercados atacadistas e diretamente do local de produção (Tabela 1, Figura 1).

6.2.2. Caracterização morfológica

Para a caracterização morfológica, foram utilizadas três repetições para cada genótipo, as quais foram plantadas no mês de fevereiro de 2021 no Espaço de Vivência Agroecológica da Universidade Federal de Sergipe. Os descritores morfológicos foram selecionados com base na literatura (IPGRI 1997). Um total de 31 descritores morfológicos foram avaliados, relacionados

às folhas, caule, florescimento, raiz e tubérculo, com 18 variáveis qualitativas e 13 variáveis quantitativas (Tabela 2). As variáveis de parte aérea foram avaliadas quando as plantas tinham 90 dias pós-plantio. As variáveis relacionadas ao tubérculo foram avaliadas quando as plantas secaram completamente, atingindo o ponto de colheita, que ocorreu entre agosto e setembro de 2021.

Os componentes de variância foram estimados por meio do modelo: $y=u+g+e$, em que y é o vetor de dados; u é a média geral (efeito fixo); g é o vetor de efeitos genotípicos (efeito aleatório); e e é o vetor de resíduos (efeito aleatório). As análises foram realizadas utilizando o software R (R Core Team 2022), com o auxílio do pacote lme4 (Bates et al. 2015) e a significância foi testada por meio do pacote lmerTest (Kuznetsova et al. 2017).

A herdabilidade no sentido amplo foi estimada por meio da fórmula: $h_b^2 = \left(\frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \sigma_e^2} \right) \times 100$, em que σ_g^2 é a variância genética e σ_e^2 é a variância ambiental. O coeficiente de variação genética (CV_g) foi calculado por meio da fórmula: $CV_g(\%) = \frac{\sqrt{\sigma_g^2}}{\mu} \times 100$ e o coeficiente de variação residual (CV_e) pela fórmula: $CV_e = \frac{\sqrt{\sigma_e^2}}{\mu} \times 100$.

A relação entre as variáveis morfológicas analisadas foi estimada por meio do coeficiente de correlação de Pearson e visualizada usando o pacote corrplot (Wei e Simko 2021). A análise de componentes principais (PCA) foi realizada por meio do pacote stats (R core team 2022) e a visualização gráfica por meio do pacote factoextra (Kassambara and Mundt 2020). Os pacotes utilizados foram desenvolvidos para o software R (R Core Team 2022).

A matriz de dissimilaridade de Gower entre os genótipos foi calculada utilizando o pacote MultivariateAnalysis (Azevedo 2021) e o dendrograma foi obtido por meio do método de agrupamento UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages) utilizando o pacote factoextra (Kassambara e Mundt 2020). Para determinar o número de grupos formados, utilizou-se o método de Mojena (1977) por meio do pacote Multivariate Analysis (Azevedo 2021). Os pacotes utilizados foram desenvolvidos para o software R (R Core Team 2022).

6.2.3. Caracterização molecular

Extração de DNA

A extração de DNA foi realizada por meio do método CTAB 2X (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) descrito por Nienhuis et al. (1995), com modificações. Em um almofariz, 100 mg de folhas foram maceradas com auxílio de almofariz e pistilo e 1 mL de tampão de extração CTAB 2X (2% de CTAB, 100 mM de Tris (pH 8,0), 20 mM de EDTA (pH 8,0), 1,4 M de NaCl e 1% de PVP), 4 µL de β-mercaptoetanol e PVP-40 (2%) (Polivinilpirrolidona). O material macerado foi acondicionado em tubo *eppendorf* e incubado a 65°C por 60 minutos. Após esse período, foram adicionados 800 µL de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1) e os tubos foram agitados lentamente até a obtenção de uma emulsão e, posteriormente, centrifugados a 17.709 *g* por 20 minutos. O sobrenadante foi transferido para um tubo contendo 600 µL de isopropanol gelado e, em seguida, colocado no freezer por no mínimo uma hora a -20°C. Após essa etapa, as amostras foram centrifugadas a 17.709 *g* por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e o precipitado (DNA) lavado uma vez com 400 µL de acetato de amônio + etanol (7,5 M) (centrifugado a 12.298 *g* por 5 minutos), duas vezes com 400 µL de etanol 70% (centrifugado a 12.298 *g* por 5 minutos) e uma vez com 400 µL de etanol PA (centrifugado a 10.000 rpm por 5 minutos). Em seguida, o precipitado foi mantido em temperatura ambiente até secar. Depois de seco, o DNA foi solubilizado em 100 µL de solução TE (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH = 8.0) contendo 10 ng/ µl de RNase, levado para o banho maria seco (37°C por 30 min) e depois armazenado no freezer a -20°C.

A concentração do DNA foi determinada por meio do espectrofotômetro da Thermo Scientific NanoDrop 2000c. A qualidade do DNA foi observada em gel de agarose 1% em TBE 1,0X (0,045M Tris-borato e 0,001M de EDTA). O gel foi submetido à eletroforese horizontal (105V por 100 minutos) e, em seguida, corado com brometo de etídeo ($0,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$), visualizado sob luz ultravioleta e fotodocumentado (Loccus Biotecnologia).

Análise de PCR

A caracterização molecular foi realizada por meio de marcadores SSR (*Simple Sequence Repeat*) e ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*). Foram testados 10 primers SSR e 30 primers ISSR. Ao final, foram selecionados aqueles que amplificaram e apresentaram boa resolução, sendo utilizados neste estudo 9 primers SSR e 16 ISSR (Tabela 3).

Para as reações de amplificação utilizando marcadores SSR, foi adotado um volume final de 20 μL contendo 2 μL de tampão PCR 10X; 0,6 μL de cloreto de magnésio (50mM); 0,4 μL de dNTP (10mM); 0,2 μL da enzima Taq DNA polimerase (1U -Invitrogen platinum); 0,2 μL de cada oligonucleotídeo iniciador (10 μM), 1 μL do DNA genômico (5 ng) e água ultrapura para completar o volume.

Para as reações de amplificação dos marcadores ISSR, foi adotado um volume final de 20 μL contendo 2 μL de tampão PCR 10X; 0,6 μL de cloreto de magnésio (50mM); 0,4 μL de dNTP (10mM); 0,2 μL da enzima Taq DNA polimerase (1U -Invitrogen platinum); 1 μL do oligonucleotídeo iniciador (10 μM), 1 μL do DNA genômico (5 ng) e água ultrapura para completar o volume.

As reações de amplificação foram conduzidas em termociclador Maxygene Gradient Axygen, submetidas a 40 ciclos de amplificação após a desnaturação inicial de 94 °C por 3 minutos. Cada ciclo foi composto por três temperaturas: 1 minuto para desnaturação a 94°C, 1 minuto para anelamento na temperatura específica para cada oligonucleotídeo, e 1 minuto para a extensão a 72°C. Ao final dos 40 ciclos, foi realizada uma extensão final a 72°C por 10 minutos.

Os produtos da amplificação foram submetidos à eletroforese horizontal, utilizando-se gel de agarose 2,0% em tampão TBE 1,0X, a 105V por 100 minutos. Em seguida, o gel foi corado com brometo de etídeo ($0,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$) e os produtos da amplificação visualizados sob luz ultravioleta e fotodocumentado (Loccus Biotecnologia). Foi utilizado um marcador de tamanho molecular de 100 pares de bases como referência para os fragmentos gerados.

Análises estatísticas

A presença (1) e ausência (0) de bandas foram usadas para a construção da matriz binária, a qual foi utilizada para estimar os parâmetros genéticos descritos a seguir. O valor de PIC (Conteúdo de informação polimórfica) para cada primer foi estimado por meio da expressão $PIC = 2f_i(1 - f_i)$, em que f_i é a frequência do alelo amplificado (presença de banda) e $1-f_i$ é a frequência do alelo nulo (Roldán-Ruiz et al. 2000).

A caracterização da variabilidade genética dos genótipos de *Dioscorea* sp. foi realizada a partir das estimativas do número de alelos observados (N_a) e efetivos (N_e); Índice de Informação de Shannon (I); Heterozigosidade esperada (H_e), calculada de acordo com as proporções esperadas pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg (Nei 1978); e Porcentagem de polimorfismo (%P). As análises foram realizadas por meio do software Genalex 6.5 (Peakall and Smouse 2012).

A distância genética entre os genótipos foi avaliada por meio da distância genética de Jaccard (1908), visualizada pela construção de um dendrograma utilizando o algoritmo UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Means) e o número de grupos formados foi determinado pelo método de Mojena (1977). A análise foi realizada com o auxílio do pacote MultivariateAnalysis (Azevedo 2021) para R (R Core Team 2022) e 9999 bootstraps foram realizados para inferir sobre a confiabilidade dos agrupamentos. O pacote factoextra para R (Kassambara e Mundt 2020) foi utilizado para formatar o dendrograma obtido (Azevedo

2021). A análise de coordenadas principais (PCoA) foi realizada por meio software Genalex 6.5 (Peakall e Smouse 2012).

A análise bayesiana foi realizada para estimar a estrutura genética dos genótipos por meio do software Structure v.2.3.4 (Pritchard et al. 2000). Foram testados valores de agrupamentos genéticos (k) variando de 1 a 5 e, para cada k, foram realizadas 10 repetições independentes. Cada repetição consistiu em um período de *burn in* de 50.000 iterações, seguido de 100.000 iterações MCMC (*Markov Chain Monte Carlo*), assumindo o modelo *admixture ancestry* e frequência de alelos não correlacionadas. O número de grupos genéticos (k) foi identificado pelo método ΔK (Evanno et al. 2005), implementado no software Structure Harvester (Earl and Holdt 2012).

6.3. Resultados

Caracterização morfológica

A caracterização morfológica dos 52 genótipos de *Dioscorea* sp. revelou que dos 31 descritores utilizados, seis não permitiram a distinção entre eles. Todos os genótipos avaliados eram plantas trepadeiras, com presença de espinhos no caule, folhas opostas, forma do ápice da folha agudo e apresentaram tubérculo e raiz na superfície do tubérculo.

A análise de variância mostrou diferenças significativas para os descritores florescimento, hábito de crescimento, cor e diâmetro do caule, tamanho da asa, número de espinhos (Tabela 4), l2 (largura entre os lóbulos), L2 (comprimento do ápice foliar à inserção do pecíolo), L3 (comprimento do lóbulo foliar) (Tabela 5) e número e forma do tubérculo (Tabela 6). Os CV_g (%) variaram de 0,0 para formato de folha a 121,8 para florescimento e os CV_e (%) variaram de 4,21 para hábito de crescimento a 206,76 para presença de raiz de sustentação. Observou-se que os CV_e foram maiores do que o CV_g para todos os parâmetros avaliados, exceto para a cor do caule (Tabelas 4, 5 e 6). Alta herdabilidade foi obtida apenas para o parâmetro cor do caule (86, 86%) (Tabela 4). Para os demais parâmetros avaliados, a herdabilidade foi considerada média a baixa variando de 43,85% a 0,0% (Tabelas 4, 5 e 6).

Observou-se que em 84,6% dos genótipos, o florescimento (FL) foi ausente, enquanto apenas 15,4% floresceram (Tabela 7). Quanto ao hábito de crescimento (GL), 98% apresentavam crescimento anti-horário, enquanto 2% apresentavam crescimento horário. Em relação à cor do caule (SC), 55,7% apresentavam caule verde, 32,7% verde/roxo e 11,6% roxo. A presença de asas (PrW) foi observada em 88,4% dos genótipos, sendo que em 53,8% estavam presentes no caule, 44,2% na base e no caule e em 2% na base do caule. Quanto ao número de espinhos (NT), 64,4% apresentavam poucos, 32,7% média e 3,9% muitos espinhos no caule.

Ao analisar a forma da folha (LS), 96,1% eram cordiformes e 3,9% hastadas (Tabela 8). Em relação à raiz de sustentação, esta estava ausente em 88,4% dos genótipos e presente em 11,6%. A distância entre lóbulos (LD) era intermediária em 98% dos genótipos e muito distante em 2%. Quanto à raiz na superfície do tubérculo (PRS), 46% apresentavam média, 40,3% poucas e 13,7% muitas raízes na superfície do tubérculo. Quanto à forma do tubérculo, 90,4% apresentavam forma oval-redonda, 7,7% oval e 1,9% redonda. Em relação à cor da polpa do tubérculo (PC), 73% eram brancas/amarelas, 13,5% amarelas e 13,5% brancas.

As médias dos descritores quantitativos estão apresentadas na Tabela 9. O número médio de caules variou de 1,0 (52% dos genótipos) a 4,7 (SE26) e o diâmetro médio do caule (SD) variou de 2,6 (AL1) a 8,0 mm (PB1). O tamanho médio da asa (WS) variou de 8,5 (AL1) a 30,8 mm (SE15). A área foliar média (LA) variou de 64,1 (AL2) a 165,0 cm² (AL8), a largura média no centro da folha (l1) variou de 3,7 (SE14) a 5,7 cm (SE25), a largura média dos lóbulos foliar (l2) variou de 2,6 (BA7) a 6,1 cm (SE7), o comprimento médio do ápice foliar à inserção do pecíolo (L2) variou de 6,4 (AL5) a 9,2 cm (BA4 e AL1), o comprimento médio do lóbulo foliar (L3) variou de 0,9 (SE14) a 2,2 cm (SE25) e o comprimento médio do pecíolo (PL) variou de 3,4 (SE18) a 5,1 cm (SE19 e SE30). O número médio de tubérculos (NT) produzidos por planta variou de 1,0 (44,2% dos genótipos) a 3,7 (SE26), o comprimento médio do tubérculo (TL) variou de 7,0 (SE15) a 43,5 cm (PB3), o diâmetro médio do tubérculo (TD) variou de 3,4 (SE15)

a 37,9 mm (SE11) e a massa fresca média do tubérculo (TFW) variou de 69,6 (SE15) a 2.123,9 g (SE1).

Os dois primeiros componentes principais explicaram 33,16% da variação total (Figura 2). O primeiro componente principal (PC1) foi responsável por 18,33% da variação total e foi correlacionado positivamente com: florescimento; diâmetro do caule; presença, posição e tamanho da asa; número de espinhos; raiz de sustentação; forma e distância entre os lóbulos da folha; l1; L3; presença de tubérculo; presença de raiz na superfície do tubérculo; forma, comprimento, diâmetro e massa fresca do tubérculo. Esse componente foi negativamente associado ao: hábito de crescimento; número e cor do caule; área foliar; l2; L2; comprimento do pecíolo; número de tubérculo; número de raiz na superfície do tubérculo e cor da polpa do tubérculo. Os genótipos que contribuíram positivamente para o PC1 foram: SE1, SE4, SE5, SE6, SE8, SE9, SE11, SE13, SE16, SE17, SE18, SE19, SE20, SE21, SE23, SE25, SE28, SE29, BA1, PB1, PB2, AL3 e AL5 (Figura 2).

O segundo componente principal (PC2) foi responsável por 14,83% da variação total (Figura 2) e foi correlacionado positivamente com: florescimento; número e cor do caule; área foliar; l1; l2; L2; L3; comprimento do pecíolo; número de tubérculo por planta; número de raízes na superfície do tubérculo; comprimento, diâmetro e massa fresca de tubérculo. Foi negativamente relacionado ao hábito de crescimento; diâmetro de caule; presença; posição e tamanho da asa; número de espinhos; presença de raiz de sustentação; forma e distância entre os lóbulos foliar; presença de tubérculo; presença de raiz na superfície do tubérculo; formato e cor da polpa do tubérculo. Os genótipos que contribuíram positivamente para o PC1 foram: SE2, SE3, SE6, SE7, SE8, SE11, SE13, SE17, SE20, SE22, SE23, SE24, SE25, SE26, SE27, SE29, SE30, SE32, BA1, BA2, BA3, BA4, BA5, PB1, PB2, AL1, AL7, AL8 e AL9 (Figura 2).

Foram observadas 68 correlações significativas entre os parâmetros avaliados, sendo 46 positivas e 22 negativas (Figura 3). A maior correlação positiva significativa foi entre presença de tubérculo e presença de raiz na superfície do tubérculo ($r = 1$; $p < 0,001$). Número de caule correlacionou positivamente com número de espinhos ($r = 0,78$; $p < 0,001$). Forma do tubérculo correlacionou positivamente com presença de tubérculo e número de raízes na superfície do tubérculo ($r = 0,76$; $p < 0,001$). As maiores correlações negativas foram observadas entre L2 e distância entre lóbulos, comprimento do pecíolo e comprimento do tubérculo, cor do caule e tamanho da asa, número de tubérculo e massa fresca de tubérculo ($r = -0,28$; $p < 0,05$).

Os 52 genótipos *Dioscorea* sp. foram agrupados em sete grupos distintos com base nos descritores morfológicos avaliados (Figura 4). O grupo I apresentou o maior número de genótipos (29), provenientes de Sergipe (20), Bahia (7), Alagoas (1) e Paraíba (1). Os genótipos do grupo I caracterizaram-se por apresentar um caule por planta, de coloração verde e diâmetro médio de 5,18 mm, formação de um tubérculo por planta e poucas raízes na superfície do tubérculo. O grupo IV foi composto por 18 genótipos, sendo 10 de Sergipe, sete de Alagoas e um da Paraíba. Os genótipos deste grupo caracterizaram-se por apresentar dois caules por planta, de coloração verde/roxo e diâmetro médio de 3,8 mm, formação de dois tubérculos por planta, com muitas raízes na superfície do tubérculo. Os grupos II, III, V, VI e VII foram compostos por apenas um genótipo (SE4, SE11, PB1, SE1 e AL1, respectivamente).

Caracterização molecular

Um total de 123 bandas foram amplificadas utilizando 9 primers SSR e 16 primers ISSR (Tabela 3). Observou-se que 100% das bandas foram polimórficas. O valor do Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC) variou de 0,16 (UBC 809) a 0,47 (YM33) (Tabela 3). Os valores de número observado de alelos (N_a) e número efetivo de alelos (N_e) foram 2,00 e 1,30, respectivamente. O índice de informação de Shannon foi igual a 0,351 e a heterozigosidade esperada (H_e) foi igual a 0,211 (Tabela 10).

O agrupamento dos 52 genótipos foi observado por meio do método de agrupamento UPGMA com base na distância genética de Jaccard (Figura 5). Os genótipos foram divididos em sete grupos geneticamente distintos, com membros semelhantes entre si. O grupo I foi

composto por sete genótipos, sendo três de Alagoas (AL8, AL6 e AL7), três de Sergipe (SE8, SE9 e SE18) e um da Paraíba (PB3). O grupo II compreendeu seis genótipos, incluindo quatro de Sergipe (SE30, SE27, SE5 e SE13), um da Bahia (BA7) e um de Alagoas (AL9). O grupo III compreendeu o maior número de genótipos (33), com a maior parte provenientes de Sergipe (23 genótipos) e os demais de Alagoas (5), da Bahia (3) e Paraíba (2). O grupo IV foi composto por dois genótipos de Sergipe (SE19 e SE15). O grupo V compreendeu dois genótipos da Bahia (BA6 e BA7). O grupo VI foi composto por um genótipo de Sergipe (SE17). O grupo VII foi composto por um genótipo da Bahia (BA4).

A menor distância de Jaccard foi observada entre os genótipos SE10 e SE7 (0,26) e a maior distância foi observada entre o genótipo BA4 e os genótipos SE4, SE5, SE6, SE8, SE9, SE11, SE12, SE13, SE14, SE15, SE17, SE18, SE19, SE20, SE21, SE23, SE27, SE29, SE28, SE29, SE30, SE31, SE32, BA1, BA2, BA3 (1,00) (Figura 5).

A análise de coordenadas principais (Figura 6) foi realizada para analisar a distribuição da variabilidade genética entre os genótipos. As duas primeiras coordenadas principais explicaram 73,34% da variância total dos 52 genótipos, sendo que o PCoA 1 explicou 66,44% da variância total e o PCoA 2 explicou 6,90%. Observou-se que os genótipos coletados nos diferentes estados foram semelhantes entre si, não sendo possível distingui-los quanto à origem geográfica.

Os 52 genótipos foram divididos em dois grupos (K=2, Figura 7), em que vermelho representa o primeiro grupo e verde representa o segundo grupo. Observou-se o compartilhamento de alelos entre os dois grupos, apesar da origem geográfica diferente.

6.4. Discussão

A diversidade genética entre 52 genótipos de *Dioscorea* sp. foi avaliada por meio de marcadores morfológicos e moleculares. Dos 31 descritores morfológicos avaliados, seis eram monomórficos (tipo de planta, presença de espinhos no caule, folhas opostas, forma do ápice da folha agudo, presença de tubérculo e presença de raiz na superfície do tubérculo) e, por isso, foram considerados não informativos para a caracterização do germoplasma de inhame avaliado.

Observou-se que os valores de CV_e foram maiores que CV_g para todos os descritores avaliados, exceto para a cor do caule, indicando a maior influência do ambiente nesses parâmetros. Esse resultado sugere que o processo de seleção em programas de melhoramento genético pode não ser eficaz para essas características (Lakshmi e Amma 1980). Os coeficientes de variação genotípicas também foram inferiores aos coeficientes de variação ambiental para todos os parâmetros morfológicos avaliados em estudo da variação genética de 27 acessos de *D. alata* (Alam et al. 2014).

As estimativas da herdabilidade no sentido amplo variaram de 0,0% para forma da folha a 86,86% para a cor do caule. Essa estimativa é importante em culturas propagadas clonalmente, visto que a propagação clonal captura todos os efeitos genéticos: aditivos, dominância e epistasia, e pode passar o genótipo intacto para a próxima geração (Norman et al. 2021). Dos descritores avaliados, a cor do caule foi o único que apresentou alta herdabilidade, indicando que este apresenta maior influência da variação genotípica e os demais apresentam maior influência da variação ambiental (Padhan et al. 2019). Assim, para esta característica, a variação fenotípica pode ser herdada, possibilitando o sucesso da seleção (Ramalho et al. 2012). A cor do caule também foi o único descritor que apresentou CV_g maior que o CV_e confirmando que esta característica morfológica poderia ser útil para o processo de seleção em programas de melhoramento de *Dioscorea* sp.

A análise de componentes principais revelou que os genótipos provenientes de diferentes locais foram morfológicamente semelhantes, não sendo possível distingui-los quanto à origem geográfica. O PC1 explicou 18,33% da variação total, sendo a contribuição para esta variação proveniente de 17 descritores avaliados.

Observou-se correlações altas e positivas para as características de tubérculo. Correlações positivas para características de tubérculo também foram observadas em estudos de caracterização de 100 acessos de *D. alata* (Agre et al. 2019) e de acessos *D. praezensilis* e *D. rotundata* (Adewumi et al. 2022). As correlações relacionadas a descritores de tubérculo são relevantes, pois características de rendimento e qualidade do tubérculo são consideradas importantes para a seleção e melhoramento de variedades de inhame (Adewumi et al. 2022).

A avaliação da diversidade fenotípica utilizando descritores morfológicos agrupou os genótipos em sete grupos distintos, revelando semelhanças entre os genótipos do mesmo grupo. O grupo I foi composto pelo maior número de genótipos, que apresentaram a formação de apenas um caule, de coloração verde e maior diâmetro, menor produção de tubérculo por planta e com poucas raízes na superfície do tubérculo. O grupo IV foi o segundo com maior número de genótipos, que apresentaram a formação de dois caules, de coloração verde/roxa e menor diâmetro, maior formação de tubérculos por planta e com muitas raízes na superfície do tubérculo. Estes resultados indicaram a existência de diversidade morfológica entre os genótipos de *Dioscorea* sp. avaliados. Os parâmetros número de tubérculos produzidos, diâmetro do caule e número de caules também tiveram contribuições importantes na avaliação da diversidade fenotípica de acessos de *D. alata* (Agre et al. 2019).

A caracterização molecular de genótipos de inhame é importante para entender a variação genética disponível para o manejo adequado do germoplasma (Onda e Mochida 2016) e conservação dos recursos genéticos nas regiões produtoras (Adjei et al. 2023). Fatores como origem geográfica dos genótipos, clima, padrões de dispersão, ciclo de vida, sistema reprodutivo e composição genética, entre outros, afetam significativamente a diversidade genética de uma espécie (Castañeda-Cordona et al. 2020).

Os valores de PIC foram calculados para avaliar a informatividade dos marcadores utilizados em nosso estudo. Para marcadores dominantes, o valor de PIC varia de 0 para marcadores monomórficos a 0,5 para marcadores que são presentes em 50% dos indivíduos e ausente nos demais 50% (Roldán-Ruiz et al. 2000). A informatividade dos marcadores dominantes com base nos valores do PIC pode ser considerada baixa (0 a 0,10), média (0,10 a 0,25), alta (0,30 a 0,40) e muito alta (0,40 a 0,50) (Serrote et al. 2020). No nosso estudo, o PIC variou de 0,16 a 0,47, sendo que 40% dos marcadores apresentaram informatividade média e 60% de alta a muito alta e, por isso, foram considerados informativos para detectar o polimorfismo.

Os marcadores utilizados neste estudo foram altamente polimórficos, sugerindo a capacidades destes de revelar a variabilidade existente entre os genótipos. Observou-se que 100% das bandas foram polimórficas para todos *primers* utilizados, indicando a existência de alta diversidade genética entre os genótipos avaliados (Wu et al. 2014). A utilização de marcadores SSR e ISSR tem contribuído significativamente para estudos de diversidade genética para o gênero *Dioscorea*. Alto polimorfismo (83,62%) também foi observado em estudos com *Dioscorea* spp. utilizando *primers* ISSR (Castañeda-Cordona et al. 2020) e na avaliação da diversidade genética de 21 raças locais de inhame da China utilizando *primers* ISSR (93,5%) (Wu et al. 2014). 92% dos loci foram polimórficos em estudo da diversidade genética de *D. alata* L. utilizando *primers* SSR (Massawe e Temu 2023).

O número de alelos (N_a) e número efetivo de alelos (N_e) observados neste estudo pode sugerir alta diversidade genética entre os genótipos avaliados. Quanto maior o número de alelos efetivos de uma população, maior é a sua diversidade (Massawe e Temu 2023). Valores de N_a de 1,9 e N_e de 1,77 foram obtidos em estudo com a espécie *D. polystachya* (Yue et al. 2022).

O valor observado para o índice de Shannon (I) confirma a alta diversidade genética existente entre os genótipos. O valor de I neste estudo foi maior em comparação a 0,263 obtido por Castañeda-cordona et al. (2020) em *D. alata* L. provenientes da Colômbia e inferior ao valor (1,00) encontrado por Chen et al. (2022) para 26 acessos de *D. alata* L. provenientes da China. Em ambos os estudos, os valores foram considerados altos.

A heterozigosidade esperada também revela a alta diversidade genética entre os genótipos avaliados. Resultados semelhantes (0,24) foram encontrados em estudo com 70 acessos de *Dioscorea* spp. da Etiópia (Ousmael et al. 2019) e em acessos de *Dioscorea* spp. cultivados na China (0,29) (Wu et al. 2014). Apesar de serem propagadas assexuadamente, as espécies de *Dioscorea* mantêm altos níveis de heterozigosidade, fato que pode estar associado ao sistema de criação e autoincompatibilidade, assim como à inclusão de novos genótipos de diferentes localidades (Castañeda-Cordona et al. 2020). Portanto, os indivíduos são geralmente heterozigotos e preservam a diversidade alélica no nível individual (Nascimento et al. 2013).

Taxas de recombinação são insignificantes entre genótipos de inhame em cultivos comerciais, visto que os agricultores selecionam o seu material de plantação a partir de tubérculos e não de sementes botânicas (Agre et al. 2021). A cultura é predominantemente dióica, com taxa de floração baixa entre os inhames cultivados e os genótipos de floração masculina muitas vezes superam os de feminina e diferem nos períodos de início e duração da floração (Mondo et al. 2020). Assim, a propagação vegetativa é predominante e, na maioria dos casos, os clones dos mesmos genótipos são coletados e plantados por vários anos (Nascimento et al. 2013). É provável que a alta diversidade genética observada seja proveniente do centro de origem do inhame e mantida por meio da propagação vegetativa.

Os 52 genótipos foram agrupados em sete grupos com base nas distâncias de Jaccard. Observou-se que nos grupos I e IV foram reunidos genótipos de diferentes locais de origem, considerados semelhantes entre si. O agrupamento de genótipos de diferentes locais de coleta revela a existência de comercialização e troca de material de plantio entre regiões produtoras de inhame, podendo os genótipos semelhantes apresentarem a mesma origem geográfica. A PCoA também confirmou que os genótipos, mesmos quando coletados em locais diferentes, são semelhantes entre si, não sendo possível distingui-los quanto à origem geográfica.

A estrutura genética da população avaliada revela uma baixa variabilidade genética existente entre os locais de coleta dos genótipos. O número ideal de K foi igual a dois, revelando que esta população está estruturada em dois grupos que compartilham alelos entre si. Assim, mesmos sendo coletados em diferentes estados, os genótipos de inhame são misturados, sugerindo a troca de material genético entre os agricultores das diferentes regiões. Resultado semelhante foi obtido em estudo de diversidade genética de inhame no Benin, onde verificou-se a existência de fluxo gênico devido ao intercâmbio inter-regional de materiais de plantio entre os agricultores de mesmas áreas ou até mesmo de outros países (Agre et al. 2021), assim como na avaliação de 72 acessos de *Dioscorea alata* coletados em quatro regiões brasileiras, em que K foi igual a dois e todas as regiões são altamente misturadas, como consequência da troca de material genético entre os agricultores (Siqueira et al. 2014).

Os genótipos coletados em Sergipe apresentam maior compartilhamento de alelos. Este resultado pode estar associado ao maior número de genótipos (33) coletados neste estado, enquanto para os demais, foram coletados menor número. Além disso, a coleta foi restrita a alguns agricultores e locais de comercialização, revelando a necessidade de aumentar o número de genótipos nos demais estados e locais de coleta.

Tanto a caracterização morfológica como a molecular indicaram a existência de alta diversidade genética entre os 52 genótipos de *Dioscorea* sp. avaliados e baixa variabilidade entre os locais de coleta, não sendo possível distinguir os genótipos quanto à origem geográfica. Em ambas as caracterizações, os 52 genótipos foram agrupados em sete grupos. Observou-se que apenas 40% dos genótipos avaliados mantiveram seus grupos, tanto no agrupamento morfológico, quanto no molecular. A caracterização morfológica apresenta a vantagem de revelar o desempenho agrônômico de uma variedade em um determinado ambiente, mas está sujeita às mudanças ambientais (Darkwa et al. 2020). Isso revela a importância de combinar a caracterização fenotípica e genotípica para melhor avaliar a diversidade genética em plantas cultivadas e minimizar as limitações de qualquer abordagem de análise (Agre et al. 2021).

6.5. Conclusões

A caracterização morfológica e molecular revela a existência de alta diversidade genética entre os 52 genótipos de *Dioscorea* sp. provenientes dos estados de Sergipe, Bahia, Alagoas e Paraíba. No entanto, a diversidade entre os locais de coleta é baixa, não sendo possível distinguir os genótipos quanto à origem geográfica.

6.6. Referências Bibliográficas

- Adewumi AS, Agre PA, Asare PA, Adu MO, Taah KJ, Mondo JM, Akaba S (2022) Exploring the Bush yam (*Dioscorea praehensilis* Benth) as a source of agronomic and quality trait genes in white Guinea yam (*Dioscorea rotundata* Poir) breeding. *Agron* 12:1-16 <https://doi.org/10.3390/agronomy12010055>
- Adjei EA, Esuma W, Alicai T, Bhattacharjee R, Dramadri IO, Edema R, Chamba EB, Odong TL (2023) Genetic diversity and population structure of Uganda's yam (*Dioscorea* spp.) genetic resource based on DArTseq. *Plos One* 18:1-16 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277537>
- Agre PA, Dassou AG, Loko LEY, Idossou R, Dadonougbo E, Gbaguidi A, Mondo JM, Muyideen Y, Adebola PO, Asiedu R, Dansi AA, Asfaw A (2021) Diversity of white Guinea yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) cultivars from Benin as revealed by agro-morphological traits and SNP markers. *Plant Genetic Resour: Charac and Utili* 19:437-446 <https://doi.org/10.1017/S1479262121000526>
- Agre P, Asibe F, Darkwa K, Edemodu A, Bauchet G, Asiedu R, Adebola P, Asfaw A (2019) Phenotypic and molecular assessment of genetic structure and diversity in a panel of winged yam (*Dioscorea alata*) clones and cultivars. *Scientific reports* 9:1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54761-3>
- Alam S, Shylla E, Bora P, Saud BK (2014) Genetic variation in different cultivars of greater yam (*Dioscorea alata*). *J of root Crops* 40(1)
- Azevedo A (2021) MultivariateAnalysis: Pacote Para Analise Multivariada. R package version 0.4.4.
- Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S (2015) Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J of Statisc Softw* 67:1-48 <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Borges-García M, Reyes-Avalos DM, Leyva-Domínguez H, Ávila-Medina U, Lambert-García T (2018) Producción de ñame clon Criollo a partir de bulbillos aéreos. *Agronomía Mesoamericana* 29:75-84
- Cao T, Sun J, Shan N, Chen X, Wang P, Zhu Q, Xiao Y, Zhang H, Zhou Q, Huang Y (2021) Uncovering the genetic diversity of yams (*Dioscorea* spp.) in China by combining phenotypic trait and molecular marker analyses. *Ecol and Evol* 11:9970-9986 <https://doi.org/10.1002/ece3.7727>
- Castañeda-Cardona CC, Morillo-Coronado Y, Morillo AC (2020) Assessing the genetic diversity of *Dioscorea alata* related species from Colombia through inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Chilean Jour of Agric Reser* 80:608-616 <https://doi.org/10.4067/S0718-58392020000400608>

Chen X, Sun J, Zhu Q, Xiao Y, Zhang H, Huang Y, Wang P, Cao T, Hu R, Xiang Z, Shan N, Zhou Q (2022) Characterizing diversity based on phenotypes and molecular marker analyses of purple yam (*Dioscorea alata* L.) germplasm in southern China. *Genet Resour Crop Evol* 69:2501-2513 <https://doi.org/10.1007/s10722-022-01388-5>

Darkwa K, Agre P, Olasanmi B, Iseki K, Matsumoto R, Powell A, Bauchet G, Koeyer DD, Muranaka S, Adebola P, Asiedu R, Terauchi R, Asfaw A (2020) Comparative assessment of genetic diversity matrices and clustering methods in white Guinea yam (*Dioscorea rotundata*) based on morphological and molecular markers. *Scient Repor* 10:13191 <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69925-9>

Earl DA, VonHoldt BM (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv Genet Resour* 4:359–361 <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>

Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Mol Ecol* 14:2611–2620 <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>

Girma G, Gedil M, Spillane C (2017) Morphological, SSR and ploidy analysis of water yam (*Dioscorea alata* L.) accessions for utilization of aerial tubers as planting materials. *Gent Resour Crop Evol* 64:291-305 <https://doi.org/10.1007/s10722-015-0351-2>

IPGRI/IITA (1997) Descriptors for yam (*Dioscorea* spp). International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria/International Plant Genetic Resources Institute, Rome

Jaccard, P (1908) Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bullet de la Socie Vandd des Scien Natur* 44:223-270

Kalu SE, Ubi GM, Osuagwu AN, Ekpo IA, Edem LU (2022) Microsatellite fingerprinting, enzymes activity and chlorophyll profiling of local lines of air potato yam (*Dioscorea bulbifera* L.) for salt tolerance. *Asian J Agric Biol* 3:1-14 <https://doi.org/10.35495/ajab.2021.01.08>

Kassambara A, Mundt F (2020) Factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses. R package version 1.0.7

Kuznetsova A, Brockhoff PB, Christensen RHB (2017) “lmerTest Package: tests in linear mixed effects models”. *J of Statist Softw* 82:1.26 <https://doi.org/10.18637/jss.v082.i13>

Lakshmi KR, Amma ECS (1980) Studies on variability and correlation in Asian greater yam *Dioscorea alata* (L.). *J. Root Crops* 6:29-32.

Loko Y, Bhattacharjee R, Agre AP, Dossou-Aminon I, Orobiyi A, Djedatin GL, Dansi A (2017) Genetic diversity and relationship of Guinea yam (*Dioscorea caynensis* Lam. – *D. rotundata* Poir. Complex) germplasm in Benin (West Africa) using microsatellite markers. *Genet Resour Crop Evol* 64:1205-1219 <https://doi.org/10.1007/s10722-016-0430-z>

Massawe JI, Temu GE (2023) Unravelling the genetic diversity of water yam (*Dioscorea alata* L.) accessions from Tanzania using simple sequence repeat (SSR) markers. *Plos One* 18:1-16 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0286480>

- Mojena R (1977) Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. *The Computer Journal* 20:359-363 <https://doi.org/10.1093/comjnl/20.4.359>
- Mondo JM, Agre PA, Edemodu A, Adebola P, Asiedu R, Akoroda MO, Asfaw A (2020) Floral biology and pollination efficiency in yam (*Dioscorea* spp.). *Agriculture* 10:560-581 <https://doi.org/10.3390/agriculture10110560>
- Nascimento WF, Siqueira MVBM, Ferreira AB, Ming LC, Peroni N, Veasey EA (2015) Distribution, management and diversity of the endangered Amerindian yam (*Dioscorea trifida* L.). *Brazilian J of Biol* 75:104-115
- Nascimento WF, Rodrigues JF, Koehler S, Gepts P, Veasey EA (2013) Spatially structured genetic diversity of the Amerindian yam (*Dioscorea trifida* L.) assessed by SSR and ISSR markers in Southern Brazil. *Genetic Resource Crop Evolution* 60:2405-2420
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 83:583-590
- Nienhuis J, Tivang J, Skroch P, Santos JB (1995) Genetic relationships among cultivars and lines of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as measured by RAPD markers. *Jour of the Amer Socie for Hortie Scien* 120(2):300-306
- Norman PE, Tongoona PB, Danquah A, Danquah EY, Agre PA, Agbona A, Asiedu R, Asfaw A (2021) Genetic parameter estimation and selection in advanced breeding population of white Guinea yam. *J of Crop Improv* 35:790-815 <https://doi.org/10.1080/15427528.2021.1881012>
- Onda Y, Mochida K (2016) Exploring genetic diversity in plants using high-throughput sequencing techniques. *Current Genomics* 17(4):358–367.
- Ousmael KM, Tesfaye K, Hailesilassie T (2019) Genetic diversity assessment of yams (*Dioscorea* spp.) from Ethiopia using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Afric J of Biotechn* 18:970-977 <https://doi.org/10.5897/AJB2018.16446>
- Padhan B, Mukherjee AK, Mohanty SK, Lenka SK, Panda D (2019) Genetic variability and inter species relationship between wild and cultivated yams (*Dioscorea* spp.) from Koraput, India based on molecular and morphological markers. *Physiol Mol Biol Plants* 25:1225-1233 <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00691-3>
- Peakall R, Smouse PE (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinforma Appl* 28:2537–2539 <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data.
- Ramvalho MAP, Santos JB, Pinto CABP, Souza EA, Gonçalves FMA, Souza JC (2012) *Genética na agropecuária*. Editora UFLA, Lavras
- R Core Team (2022) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>

Rao GK, Kapadia C, Patel NB, Desai KD, Murthy PNN (2020) Genetic diversity analysis of greater yam (*Dioscorea alata* L.) genotypes through RAPD and ISSR markers. Biocat and Agric Biotech 23:101495 <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101495>

Roldán-Ruiz, I.; Dendauw, J.; Van Bockstaele, E.; Depicker, A.; de Loose, M. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). Mol. Breed. 2000, 6, 125–134.

Serrote CML, Reiniger LRS, Silva KB, Rabaiolli SMS, Stefanel CM (2020) Determining the Polymorphism Information Content of a Molecular Marker. Gene 19 <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.144175>

Siqueira MVBM (2011) Yam: A neglected and underutilized crop in Brazil. Horticultura Brasileira 29:16-20

Siqueira MVBM, Bonatelli ML, Günther T, Gawenda I, Schmid KJ, Pavinato VAC, Veasey EA (2014) Water yam (*Dioscorea alata* L.) diversity pattern in Brazil: an analysis with SSR and morphological markers. Genet Resour Crop Evol 61:611-624 <https://doi.org/10.1007/s10722-013-0063-4>

Wei T, Simko V (2021) R package ‘corrplot’: visualization of a correlation matrix (Version 0.92). Available from <https://github.com/taiyun/corrplot>

Wu ZG, Li XX, Lin XC, Jiang W, Tao ZM, Mantri N, Fan CY, Bao XQ (2014) Genetic diversity analysis of yams (*Dioscorea* spp.) cultivated in China using ISSR and SRAP markers. Genet Resour Crop Evol 61:639-650 <https://doi.org/10.1007/s10722-013-0065-2>

Wu W, Chen C, Zhang Q, Ahmed JZ, Xu Y, Huang X, Xie J, Xia W, Huang D (2019) A comparative assessment of diversity of greater yam (*Dioscorea alata*) in China. Sci Hortc-Amsterdam 243:116-124.

Yue W, Zixia G, Min C, Yanmei Z, Xiaoqin S, Yifeng Z, Peng B (2022) Genetic relationship and species identification of *Dioscorea polystachya* Turcz. in yams determined by ISSR, ISAP, SRAP and SCAR markers. Genet Resour Crop Evol 69:1953-1964 <https://doi.org/10.1007/s10722-022-01356-z>

Tabela 1. Lista dos 52 genótipos de *Dioscorea* sp. avaliados com o local e cidade de aquisição, estado e cidade de origem.

Genótipo	Local de aquisição	Cidade de aquisição	Estado de origem	Cidade de origem
SE1	CEASA	Aracaju	Sergipe	Malhador
SE2	CEASA	Aracaju	Sergipe	Malhador
SE3	CEASA	Aracaju	Sergipe	Malhador
SE4	CEASA	Aracaju	Sergipe	Malhador
SE5	CEASA	Aracaju	Sergipe	Malhador
SE6	CEASA	Aracaju	Sergipe	Malhador
SE7	CEASA	Aracaju	Sergipe	Malhador
SE8	CEASA	Aracaju	Sergipe	Malhador
SE9	CEASA	Aracaju	Sergipe	Malhador
SE10	CEASA	Aracaju	Sergipe	Malhador
SE11	Mercado municipal	Aracaju	Sergipe	Malhador
SE12	Mercado municipal	Aracaju	Sergipe	Malhador
SE13	Mercado municipal	Aracaju	Sergipe	Malhador
SE14	Mercado municipal	Aracaju	Sergipe	Malhador
SE15	Feira livre	Umbaúba	Sergipe	Santa Rosa de Lima
SE16	Feira livre	Umbaúba	Sergipe	Santa Rosa de Lima
SE17	Feira livre	Umbaúba	Sergipe	Santa Rosa de Lima
SE18	Feira livre	Umbaúba	Sergipe	Santa Rosa de Lima
SE19	Feira livre	São Cristóvão	Sergipe	Malhador
SE20	Feira livre	São Cristóvão	Sergipe	Malhador
SE21	Produtor	Malhador	Sergipe	Malhador
SE22	Produtor	Malhador	Sergipe	Malhador
SE23	Produtor	Malhador	Sergipe	Malhador
SE24	Produtor	Malhador	Sergipe	Malhador
SE25	Produtor	Malhador	Sergipe	Malhador
SE26	Produtor	Malhador	Sergipe	Malhador
SE27	Produtor	Malhador	Sergipe	Malhador
SE28	Produtor	Malhador	Sergipe	Malhador
SE29	Produtor	Malhador	Sergipe	Malhador
SE30	Produtor	Malhador	Sergipe	Malhador
SE31	Produtor	Malhador	Sergipe	Malhador
SE32	Produtor	Malhador	Sergipe	Malhador
SE33	Produtor	Malhador	Sergipe	Malhador
BA1	Feira livre	Gov. Mangabeira	Bahia	Gov. Mangabeira
BA2	Feira livre	Gov. Mangabeira	Bahia	Gov. Mangabeira
BA3	Feira livre	Gov. Mangabeira	Bahia	Gov. Mangabeira
BA4	Feira livre	Cruz das Almas	Bahia	Cruz das Almas
BA5	Feira livre	Cruz das Almas	Bahia	Cruz das Almas
BA6	Feira livre	Cruz das Almas	Bahia	Cruz das Almas
BA7	Feira livre	Cruz das Almas	Bahia	Cruz das Almas
PB1	Feira livre	João Pessoa	Paraíba	Não informado
PB2	Feira livre	João Pessoa	Paraíba	Não informado
PB3	Feira livre	João Pessoa	Paraíba	Não informado
AL1	Feira livre	Viçosa	Alagoas	Viçosa
AL2	Feira livre	Lagoa da Canoa	Alagoas	Lagoa da Canoa
AL3	Feira livre	Lagoa da Canoa	Alagoas	Lagoa da Canoa
AL4	Feira livre	Lagoa da Canoa	Alagoas	Lagoa da Canoa
AL5	Feira livre	Maceió	Alagoas	Maceió
AL6	Feira livre	Murici	Alagoas	Murici
AL7	Feira livre	Murici	Alagoas	Murici
AL8	Feira livre	Murici	Alagoas	Murici
AL9	Feira livre	Murici	Alagoas	Murici

SE – Sergipe; BA – Bahia; PB – Paraíba; AL – Alagoas; CEASA – Central de Abastecimento de Sergipe

Tabela 2. Descritores utilizados na caracterização morfológica dos 52 genótipos de *Dioscorea* sp.

Descritores	Classes fenotípicas analisadas
Qualitativos:	
Tipo de planta	1-Trepadeira; 2-Arbusto; 3-Anã
Hábito de crescimento	1-Horário; 2-Anti-horário
Cor do caule	1-Verde; 2-Roxo; 3-Verde/roxo
Asas no caule	1-Presença; 2-Ausência
Posição das asas no caule	1-Base; 2-Caule; 3-Base/caule
Espinhas	1-Presença; 2-Ausência
Quantidade de espinhas	1-Poucos; 2-Médio; 3-Muitos
Posição das folhas	1-Alternada; 2-Oposta; 3-Ambas; 4-Verticiladas
Raiz de sustentação	1-Presença; 2-Ausência
Forma da folha	1-Codiforme; 2-Hastada; 3-Oval; 4-Sagitiforme
Forma do ápice da folha	1-Agudo; 2-Obtuso; 3-marginalizado
Distância dos lóbulos foliar	1-Sem distância; 2-Intermediária; 3-muito distante
Florescimento	1-Presença; 2-Ausência
Tubérculo	1-Presença; 2-Ausência
Raiz na superfície do tubérculo	1-Presença; 2-Ausência
Quantidade de raiz na superfície	1-Poucas; 2-Média; 3-Muitas
Forma do tubérculo	1-Redondo; 2-Oval; 3-Oval-oblongo; 4-irregular
Cor da polpa	1-Branca; 2-Amarela; 3-Branca/Amarela;
Quantitativos	
Número de caules por planta	contagem total
Diâmetro do caule	mm
Tamanho das asas	mm
Área foliar total	cm ²
l1 – Largura no centro da folha	cm
l2 – Largura dos lóbulos foliar	cm
L2 – Comprimento do ápice foliar à inserção do pecíolo	cm
L3 – Comprimento do lóbulo foliar	cm
Número de tubérculo por planta	Contagem total
Comprimento do pecíolo	cm
Comprimento do tubérculo	cm
Diâmetro do tubérculo	cm
Massa fresca do tubérculo	g

Tabela 3. Primers SSR e ISSR utilizados na caracterização molecular dos 52 genótipos de *Dioscorea* sp.

Primer	Sequência (5' - 3')	Ta (°C)	NBT	P (%)	PIC
<i>SSR</i>					
YM06	F: ACAGAGCTGTTGACACAAACA R: CCTCAATGAACCTTTGGTCTA	53,0	2	100	0,26
YM10	F: ACCCAAAATATTCTCCCCATTATAC R: TTGACACTCATCTTATATTGCTCC	51,0	2	100	0,27
YM32	F: GAGGTCTGCGACGGATTTG R: TCGCATTCTTCATCCTCTTCAC	54,0	2	100	0,47
YM33	F: ACCATGGGATGAAGGGAAGG R: GCATATGGTGCATGGGAGC	54,0	3	100	0,32
YM36	F: CCTTACCACCGGACTCCTC R: TGCAGCAATACACCGGAAC	54,0	2	100	0,36
YM45	F: GCTGTTTTTGGGATTTAGTAGG R: GCAACTAGATATGCTTGGACAC	52,0	2	100	0,39
YM53	F: CTCATAAGCAGAGCCTTCTCTC R: TACAGTCCCTGTTTGAGCATAG	53,0	2	100	0,33
YM65	F: ACAAATGCACGCTCTGAAGG R: GGGCAGTAGAATTTGGTGCG	55,0	1	100	0,44
YM66	F: ATATTGACTGACCACCAGATCA R: GAAGAGTCTTGGATTTCTACCA	51,0	1	100	0,36
<i>ISSR</i>					
Beckey	CAC ACA CAC ACA CAY C	47,0	2	100	0,21
Goofy	GTG TGT GTG TGT GTY G	47,0	5	100	0,28
UBC 807	AGA GAG AGA GAG AGA GT	47,0	12	100	0,34
UBC 809	AGA GAG AGA GAG AGA GG	52,0	9	100	0,16
UBC 811	GAG AGA GAG AGA GAG AC	57,2	5	100	0,29
UBC 816	CAC ACA CAC ACA CAC AT	54,8	1	100	0,44
UBC 817	CAC ACA CAC ACA CAC AA	54,8	5	100	0,38
UBC 825	ACA CAC ACA CAC ACA CT	54,8	7	100	0,23
UBC 842	GAG AGA GAG AGA GAG AYG	58,8	9	100	0,30
UBC 848	CAC ACA CAC ACA CAC ARG	58,8	12	100	0,28
UBC 860	TGT GTG TGT GTG TGT GRA	52,0	6	100	0,39
UBC 864	ATG ATG ATG ATG ATG ATG	50,8	5	100	0,24
UBC 888	BDB CAC ACA CAC ACA CA	56,4	9	100	0,39
UBC 890	VHV GTG TGT GTG TGT GT	56,4	9	100	0,45
UBC898	CACACACACACARY	41,0	5	100	0,27
UBC899	CACACACACACARG	41,0	5	100	0,25

Ta - Temperatura de anelamento; NBT – número de bandas total; NBP – número de bandas polimórficas; P (%) – porcentagem de polimorfismo; PIC – Conteúdo de Informação Polimórfica.

Tabela 4. Parâmetros de variabilidade genética para os descritores morfológicos florescimento (FL), hábito de crescimento (GH), número de caule (NS), cor do caule (SC) e diâmetro de caule (SD), presença de asa (PrW), posição da asa (PW) e tamanho da asa (WS), número de espinhos (NT) e presença de raiz de sustentação (PSR) avaliados em 52 genótipos de *Dioscorea* sp.

Parâmetros	FL**	GH**	NS ^{n.s.}	SC**	SD**	PrW ^{n.s.}	PW ^{n.s.}	WS**	NT*	PSR ^{n.s.}
σ_g^2	0.0710	0.0000	0.2478	0.7946	0.7638	0.0006	0.0079	8.9490	0.1036	0.0033
σ_e^2	0.0982	0.0070	1.3566	0.1202	1.7724	0.0476	0.3845	24.2880	0.2880	0.1503
σ_p^2	0.1619	0.0070	1.6044	0.9148	2.5362	0.0482	0.3924	33.2370	0.3916	0.1536
h_b^2	43.8542	0.1059	15.4450	86.8605	30.1159	1.3349	2.0133	26.9248	26.4556	2.1484
CV _g (%)	121.8095	0.1371	31.2342	50.9373	19.3316	2.6845	3.4379	17.5045	22.7620	30.6377
CV _e (%)	143.2543	4.2102	73.0812	19.8114	29.4483	23.0796	23.9843	28.8375	37.9514	206.7656
$\bar{X}$	0.2188	1.9922	1.5938	1.7500	4.5209	0.9453	2.5854	17.0898	1.4141	0.1875
Max	1.0000	2.0000	9.0000	3.0000	13.4800	1.0000	3.0000	36.8000	3.0000	1.0000
Min	0.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.8000	0.0000	1.0000	7.2500	1.0000	0.0000

σ_g^2 – Genotypic variation; σ_e^2 – Environmental variation; σ_p^2 – Phenotypic variation; h_b^2 – heritability; CV_g – coefficient of genotypic variation; CV_e – Coefficient of environmental variation; $\bar{X}$ – average; Max – maximum; Min – Minimum. n.s - Not significant; * significant at 5% probability; ** significant at 1% probability.

Tabela 5. Parâmetros de variabilidade genética para os descritores morfológicos formato da folha (LS), distância entre lóbulos (LD), área foliar (LA), comprimento do pecíolo (PL), l1 (largura no centro da folha), l2 (largura dos lóbulos foliar), L2 (Comprimento do ápice foliar à inserção do pecíolo) e L3 (comprimento do lóbulo foliar) avaliados em 52 genótipos de *Dioscorea* sp.

Parâmetros	LS ^{n.s.}	LD ^{n.s.}	LA ^{n.s.}	PL ^{n.s.}	l1 ^{n.s.}	l2*	L2*	L3*
σ_g^2	0.0000	0.0037	7.2854	0.0396	0.0036	0.2416	0.1874	0.0300
σ_e^2	0.0052	0.0404	1282.4787	0.4192	0.5767	1.1159	1.0371	0.1233
σ_p^2	0.0052	0.0441	1289.7641	0.4588	0.5803	1.3575	1.2245	0.1533
h_b^2	0.0000	8.3995	0.5649	8.6312	0.6204	17.7974	15.3042	19.5695
CVg (%)	0.0000	5.8165	2.0796	4.6121	1.2723	10.8758	5.5346	10.9527
CVe (%)	7.1357	19.2081	27.5910	15.0057	16.1035	23.3736	13.0200	22.2046
$\bar{X}$	1.0106	1.0458	129.7947	4.3147	4.7158	4.5195	7.8217	1.5814
Max	1.7500	2.5000	241.9770	5.7165	7.0765	8.1580	10.8883	2.5863
Min	1.0000	1.0000	42.9740	2.8845	3.0495	1.9760	4.4153	0.6863

σ_g^2 – Genotypic variation; σ_e^2 - Environmental variation; σ_p^2 - Phenotypic variation; h_b^2 – heritability; CVg - coefficient of genotypic variation; CVe – Coefficient of environmental variation; $\bar{X}$ – average; Max – maximum; Min – Minimum. n.s - Not significant; * significant at 5% probability.

Tabela 6. Parâmetros de variabilidade genética para os descritores morfológicos número de tubérculo (NT), número de raiz na superfície do tubérculo (NRS), forma do tubérculo (TS), comprimento do tubérculo (TL), diâmetro do tubérculo (TD), massa fresca do tubérculo (TFW) e cor da polpa (PC) avaliados em 52 genótipos de *Dioscorea* sp.

Parâmetros	NT**	NRS ^{n.s.}	TS**	TL ^{n.s.}	TD ^{n.s.}	TFW ^{n.s.}	PC ^{n.s.}
σ_g^2	0.1422	0.0568	0.0352	0.5703	0.5160	7786.0000	0.2073
σ_e^2	0.8398	0.6287	0.1968	59.5260	67.2170	253431.0000	1.3126
σ_p^2	0.9820	0.6855	0.2320	60.0963	67.7330	261217.0000	1.5199
h_b^2	14.4807	8.2859	15.1724	0.9490	0.7618	2.9807	13.6391
CV _g (%)	24.4002	12.9462	6.3993	3.7628	9.3455	12.6780	14.7271
CV _e (%)	59.2969	43.0714	15.1313	38.4426	106.6640	72.3309	37.0580
$\bar{X}$	1.5455	1.8409	2.9318	20.0697	7.6864	695.9946	3.0916
Max	6.0000	3.0000	4.0000	43.5000	98.6900	2236.6000	4.0000
Min	1.0000	1.0000	1.0000	3.0000	2.1000	5.3000	1.0000

σ_g^2 – Genotypic variation; σ_e^2 - Environmental variation; σ_p^2 - Phenotypic variation; h_b^2 – heritability; CV_g - coefficient of genotypic variation; CV_e – Coefficient of environmental variation; $\bar{X}$ – average; Max – maximum; Min – Minimum. n.s - Not significant; ** (p<0.01).

Tabela 7. Caracterização morfológica de 52 genótipos de *Dioscorea* sp. baseada em seis descritores qualitativos

Genótipo	FL	GH	SC	PrW	PW	NT
SE1	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Base/caule	Poucos
SE2	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Caule	Poucos
SE3	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Base/caule	Poucos
SE4	Ausente	Anti-horário	Verde	Ausente	Caule	Poucos
SE5	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Caule	Poucos
SE6	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Caule	Poucos
SE7	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Caule	Poucos
SE8	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Caule	Poucos
SE9	Ausente	Anti-horário	Verde/roxo	Presente	Caule	Médio
SE10	Ausente	Anti-horário	Verde/roxo	Presente	Base/caule	Poucos
SE11	Presente	Horário	Verde	Presente	Caule	Poucos
SE12	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Caule	Médio
SE13	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Base/caule	Muitos
SE14	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Base/caule	Poucos
SE15	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Base/caule	Médio
SE16	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Caule	Poucos
SE17	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Base/caule	Médio
SE18	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Base/caule	Médio
SE19	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Base/caule	Médio
SE20	Presente	Anti-horário	Verde	Presente	Base/caule	Poucos
SE21	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Base/caule	Médio
SE22	Presente	Anti-horário	Verde/roxo	Ausente	Base/caule	Poucos
SE23	Ausente	Anti-horário	Roxo	Presente	Caule	Poucos
SE24	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Caule	Médio
SE25	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Base/caule	Poucos
SE26	Ausente	Anti-horário	Roxo	Ausente	Caule	Poucos
SE27	Ausente	Anti-horário	Verde/roxo	Presente	Base/caule	Poucos
SE28	Presente	Anti-horário	Verde	Presente	Caule	Médio
SE29	Ausente	Anti-horário	Verde/roxo	Presente	Caule	Poucos
SE30	Ausente	Anti-horário	Verde/roxo	Presente	Caule	Poucos
SE31	Ausente	Anti-horário	Verde/roxo	Ausente	Caule	Poucos
SE32	Ausente	Anti-horário	Verde/roxo	Presente	Base/caule	Poucos
SE33	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Base/caule	Médio
BA1	Ausente	Anti-horário	Roxo	Presente	Caule	Poucos
BA2	Presente	Anti-horário	Verde	Presente	Caule	Poucos
BA3	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Caule	Poucos
BA4	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Caule	Médio
BA5	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Base/caule	Poucos
BA6	Ausente	Anti-horário	Verde	Presente	Caule	Médio
BA7	Ausente	Anti-horário	Roxo	Presente	Caule	Poucos
PB1	Ausente	Anti-horário	Roxo	Presente	Base/caule	Muitos
PB2	Ausente	Anti-horário	Verde/roxo	Presente	Caule	Médio
PB3	Ausente	Anti-horário	Verde/roxo	Presente	Base/caule	Poucos
AL1	Ausente	Anti-horário	Verde/roxo	Presente	Base/caule	Médio
AL2	Ausente	Anti-horário	Verde/roxo	Presente	Caule	Poucos
AL3	Ausente	Anti-horário	Roxo	Presente	Caule	Médio
AL4	Presente	Anti-horário	Verde/roxo	Presente	Base/caule	Poucos
AL5	Presente	Anti-horário	Verde	Presente	Base/caule	Poucos
AL6	Ausente	Anti-horário	Verde/roxo	Presente	Caule	Médio
AL7	Ausente	Anti-horário	Verde/roxo	Ausente	Base/caule	Médio
AL8	Ausente	Anti-horário	Verde/roxo	Presente	Base	Poucos
AL9	Presente	Anti-horário	Verde/roxo	Ausente	Caule	Poucos

SE – Sergipe; BA – Bahia; PB – Paraíba; AL – Alagoas; FL – florescimento; GH – hábito de crescimento; SC – cor do caule; PrW – presença de asas; PW – posição das asas; NT – número de espinhos.

Tabela 8. Caracterização morfológica de 52 genótipos de *Dioscorea* sp. baseada em seis descritores qualitativos

Genótipo	LS	LD	SR	NRS	TS	PC
SE1	Hastada	Intermediária	Presente	Poucas	Oval	Amarela
SE2	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Poucas	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE3	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Branca
SE4	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Branca
SE5	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Branca
SE6	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Poucas	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE7	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Poucas	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE8	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Poucas	Oval-oblongo	Branca
SE9	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Poucas	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE10	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Muitas	Oval-oblongo	Amarela
SE11	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE12	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE13	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Poucas	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE14	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE15	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Poucas	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE16	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Poucas	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE17	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Poucas	Oval-oblongo	Branca
SE18	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Poucas	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE19	Cordiforme	Intermediária	Presente	Poucas	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE20	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Poucas	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE21	Hastada	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE22	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Muitas	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE23	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Amarela
SE24	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE25	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE26	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Amarela
SE27	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Amarela
SE28	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE29	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Muitas	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE30	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE31	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval	Branca/amarela
SE32	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Branca/amarela
SE33	Cordiforme	Intermediária	Presente	Poucas	Oval-oblongo	Branca/amarela
BA1	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Poucas	Oval-oblongo	Branca/amarela
BA2	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Branca/amarela
BA3	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Poucas	Oval-oblongo	Branca/amarela
BA4	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Poucas	Oval-oblongo	Branca/amarela
BA5	Cordiforme	Intermediária	Presente	Poucas	Oval-oblongo	Branca/amarela
BA6	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval	Branca/amarela
BA7	Cordiforme	Muito distante	Ausente	Média	Oval	Branca
PB1	Cordiforme	Intermediária	Presente	Muitas	Oval-oblongo	Amarela
PB2	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Poucas	Oval-oblongo	Branca/amarela
PB3	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Branca/amarela
AL1	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Poucas	Redonda	Branca
AL2	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Poucas	Oval-oblongo	Amarela
AL3	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Muitas	Oval-oblongo	Branca/amarela
AL4	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Branca/amarela
AL5	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Branca/amarela
AL6	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Média	Oval-oblongo	Branca/amarela
AL7	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Muitas	Oval-oblongo	Branca/amarela
AL8	Cordiforme	Intermediária	Ausente	Muitas	Oval-oblongo	Branca/amarela
AL9	Cordiforme	Intermediária	Presente	Média	Oval-oblongo	Branca/amarela

SE – Sergipe; BA – Bahia; PB – Paraíba; AL – Alagoas; LS – forma da folha; LD – distância entre lóbulos; SR – raiz de sustentação; NRS – número de raiz na superfície do tubérculo; TS – forma do tubérculo; PC – cor da polpa do tubérculo.

Tabela 9. Caracterização morfológica de genótipos de *Dioscorea* sp. baseada em descritores quantitativos

Genótipo	SD	NS	WS	LA	l1	l2	L2	L3	PL	NT	TL	TD	TFW
SE1	4,8	1,0	20,4	107,9	4,8	4,3	6,5	1,2	3,9	1,0	37,0	9,1	2.123,9
SE2	7,9	1,0	15,7	143,1	5,4	4,9	7,0	1,8	4,0	2,0	21,9	6,3	591,5
SE3	4,3	1,0	18,5	156,4	5,0	3,7	7,7	2,1	3,8	1,0	19,5	6,9	565,3
SE4	4,4	1,0	12,9	99,8	4,3	2,9	6,7	1,8	3,5	1,0	22,8	7,2	934,9
SE5	4,8	1,0	18,2	118,5	4,9	3,3	7,6	1,8	3,6	1,0	23,1	7,5	1.186,7
SE6	5,9	1,0	17,0	131,4	4,6	4,4	7,8	1,8	4,1	2,0	23,0	7,3	765,0
SE7	4,7	1,6	13,9	143,1	5,4	6,1	6,9	1,9	4,1	2,0	20,9	5,8	517,4
SE8	4,6	1,0	23,9	133,4	4,9	3,6	6,8	1,8	3,5	1,0	24,1	8,3	1.071,3
SE9	5,6	1,0	12,8	115,2	4,9	4,9	7,2	1,6	4,3	1,0	20,9	7,9	975,2
SE10	2,8	2,0	9,3	114,1	4,6	4,3	8,0	1,6	4,6	2,0	13,8	4,2	197,3
SE11	4,8	1,3	14,7	134,3	5,2	4,5	7,6	1,5	4,3	1,3	28,7	37,9	1.625,5
SE12	3,7	1,0	13,6	114,1	4,6	4,6	7,4	1,5	4,0	2,3	19,0	7,2	563,4
SE13	5,6	1,0	19,9	128,4	4,1	4,1	9,0	1,7	4,3	1,5	22,5	7,2	882,7
SE14	6,1	1,0	14,4	105,1	3,7	4,3	8,9	0,9	3,6	1,0	13,4	8,5	465,5
SE15	7,6	1,0	30,8	74,0	4,8	5,1	8,5	1,4	4,2	1,0	7,0	3,4	69,6
SE16	4,1	1,0	16,3	97,2	4,6	4,4	7,5	1,3	4,1	1,0	21,6	7,2	849,1
SE17	5,0	1,0	14,6	130,2	4,8	4,9	7,6	1,5	3,9	1,0	22,0	8,1	919,2
SE18	5,9	1,0	26,1	91,1	3,9	3,0	7,1	1,2	3,4	1,0	26,5	7,8	1.101,2
SE19	6,1	1,0	16,6	101,4	4,5	4,5	7,2	1,3	3,9	1,0	24,3	6,9	1.149,1
SE20	5,1	1,0	17,7	151,7	4,5	3,6	7,2	1,5	3,9	1,0	20,2	8,8	981,0
SE21	4,7	1,6	16,8	120,0	4,2	3,7	8,0	1,5	3,8	1,5	25,8	7,3	950,2
SE22	3,7	3,0	20,9	142,9	4,9	5,8	8,0	1,2	4,8	2,2	15,0	7,0	364,2
SE23	4,2	2,3	18,3	128,0	4,5	5,2	7,9	1,4	4,7	2,0	22,1	7,4	755,9
SE24	4,4	1,6	17,2	156,6	4,8	4,5	7,6	1,9	4,0	1,5	20,7	8,3	670,2
SE25	4,4	1,2	16,5	163,1	5,7	5,5	8,7	2,2	5,0	1,0	19,1	7,5	818,8
SE26	2,9	4,7	12,8	131,4	4,2	4,3	8,5	1,4	4,5	3,7	13,7	5,7	271,1
SE27	3,9	1,0	14,4	132,9	4,9	4,3	8,3	1,5	4,3	1,0	15,8	7,9	525,5
SE28	4,7	1,0	19,7	113,3	5,0	4,7	7,5	1,7	4,3	1,3	19,0	7,3	900,7
SE29	3,2	1,0	23,5	148,6	4,8	4,4	8,4	1,6	5,1	1,0	19,7	10,4	768,2
SE30	3,2	3,4	11,9	137,6	4,7	5,2	9,1	1,5	5,1	2,6	18,5	7,4	626,2
SE31	4,0	1,3	12,5	111,7	4,7	5,0	8,9	1,6	4,8	2,7	17,0	7,0	517,5
SE32	3,2	4,0	15,3	140,1	4,8	6,0	8,6	1,5	5,0	3,0	21,5	6,1	419,3
SE33	4,2	1,0	13,2	95,5	4,3	4,7	7,2	1,4	4,2	1,0	11,0	6,3	227,0
BA1	4,7	1,0	19,6	138,7	4,6	3,7	8,1	1,8	4,1	1,0	26,1	7,9	933,4
BA2	3,7	1,3	19,1	131,5	4,8	5,8	7,8	1,4	4,6	1,7	22,2	5,8	638,1
BA3	4,2	1,2	19,4	165,4	4,9	4,5	9,0	1,8	4,9	2,0	18,5	4,6	251,6
BA4	7,8	1,3	20,7	140,1	4,6	4,8	9,2	1,2	4,4	1,0	15,5	6,0	645,7
BA5	5,6	1,0	21,5	132,6	5,1	3,8	7,0	1,9	4,1	1,5	16,0	6,4	349,2
BA6	4,8	1,7	15,9	129,6	4,8	4,0	7,3	1,4	4,1	1,3	9,2	6,1	213,0
BA7	4,3	1,3	11,1	122,9	5,4	2,6	7,5	2,2	4,4	1,0	10,3	5,6	413,9
PB1	8,0	1,0	21,4	163,6	4,8	5,0	8,1	1,9	4,7	1,0	24,4	9,7	1167,3
PB2	3,8	2,0	13,1	129,2	5,1	4,9	7,9	1,9	4,7	1,3	23,5	7,3	1123,4
PB3	5,5	1,0	23,4	111,5	3,9	3,3	8,3	1,4	3,9	1,0	43,5	6,3	314,4
AL1	2,6	1,0	8,5	153,1	4,8	5,4	9,2	2,0	4,7	1,0	20,0	7,6	695,9
AL2	3,3	1,0	13,6	64,1	3,9	4,3	8,3	1,1	4,3	1,0	20,2	6,6	546,1
AL3	3,2	1,5	28,5	113,1	4,3	4,3	6,7	1,8	4,5	1,5	20,0	8,5	1.024,2
AL4	3,6	3,0	18,0	124,4	4,0	4,7	7,8	1,2	4,5	3,5	20,9	4,4	217,9
AL5	4,8	1,2	25,1	119,8	4,4	3,6	6,4	1,7	4,0	1,4	22,1	8,4	843,6
AL6	3,7	2,2	16,2	127,6	3,9	4,6	8,2	1,1	4,5	1,3	18,5	5,9	439,9
AL7	3,6	2,0	11,1	148,2	4,5	4,7	9,1	1,4	4,7	1,3	23,7	6,1	675,0
AL8	2,6	1,0	13,2	165,0	4,7	5,1	9,1	1,5	5,0	1,5	22,8	6,6	692,4
AL9	3,3	1,3	16,5	155,3	4,9	5,1	7,8	1,5	4,7	1,5	15,8	3,9	182,4

SE – Sergipe; BA – Bahia; PB – Paraíba; AL – Alagoas; SD – diâmetro do caule (mm); NS – número de caules; WS – tamanho da asa (mm); LA – área foliar (cm²); l1 - largura no centro da folha (cm); l2 - largura dos lóbulos foliar (cm); L2 - comprimento do ápice foliar à inserção do pecíolo (cm); L3 - comprimento do lóbulo foliar (cm); PL – comprimento do pecíolo (cm); NT – número de tubérculo; TL – comprimento do tubérculo (cm); TD – diâmetro do tubérculo (mm); TFW – massa fresca do tubérculo (g).

Tabela 10. Estimativas dos parâmetros de variabilidade genética para os 52 genótipos de *Dioscorea* sp.

Genótipos	N	N _a	N _e	I	H _e	P (%)
<i>Dioscorea</i> sp.	52	2.00	1.30	0.351	0.211	100.00
sd	0.00	0.00	0.021	0.01	0.01	0.00

Na – número observado de alelos; Ne – número efetivo de alelos; I – Índice de informação de Shannon; He – Heterozigosidade esperada; P (%) – porcentagem de polimorfismo; sd – standard deviation.

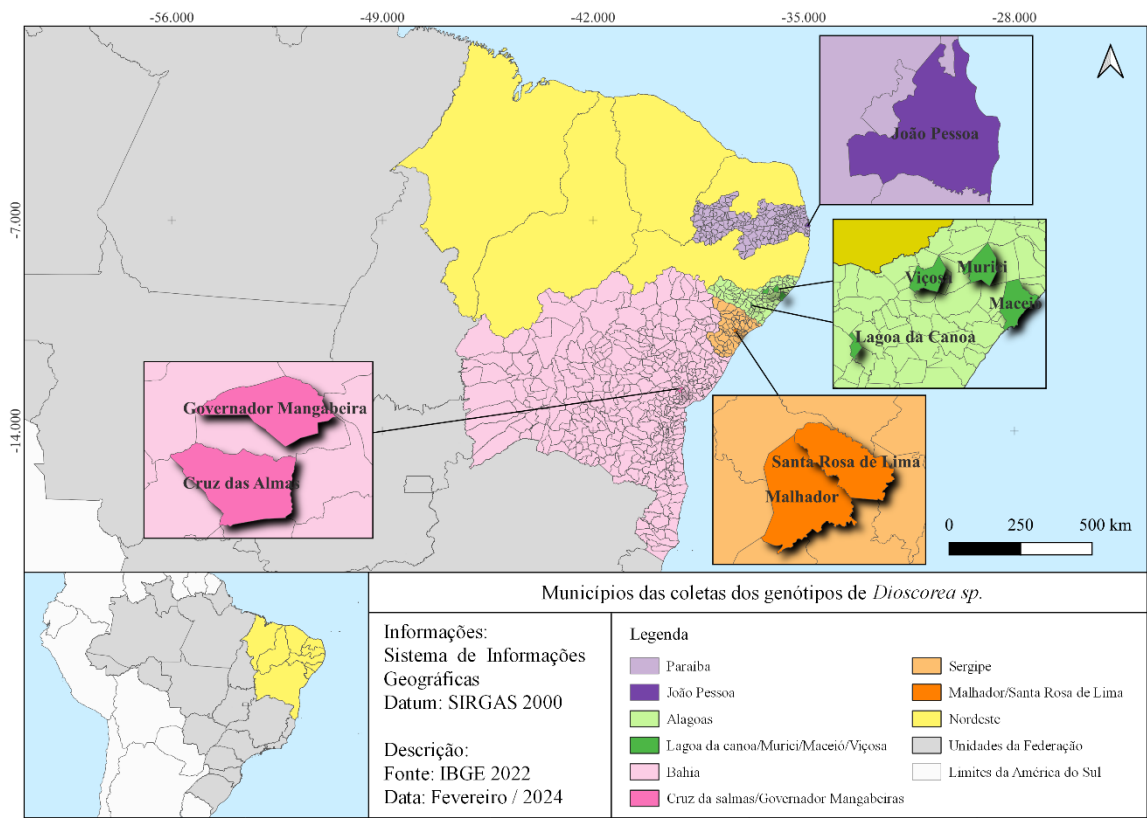


Figura 1 Locais de origem dos genótipos de *Dioscorea* sp. provenientes da região Nordeste do Brasil

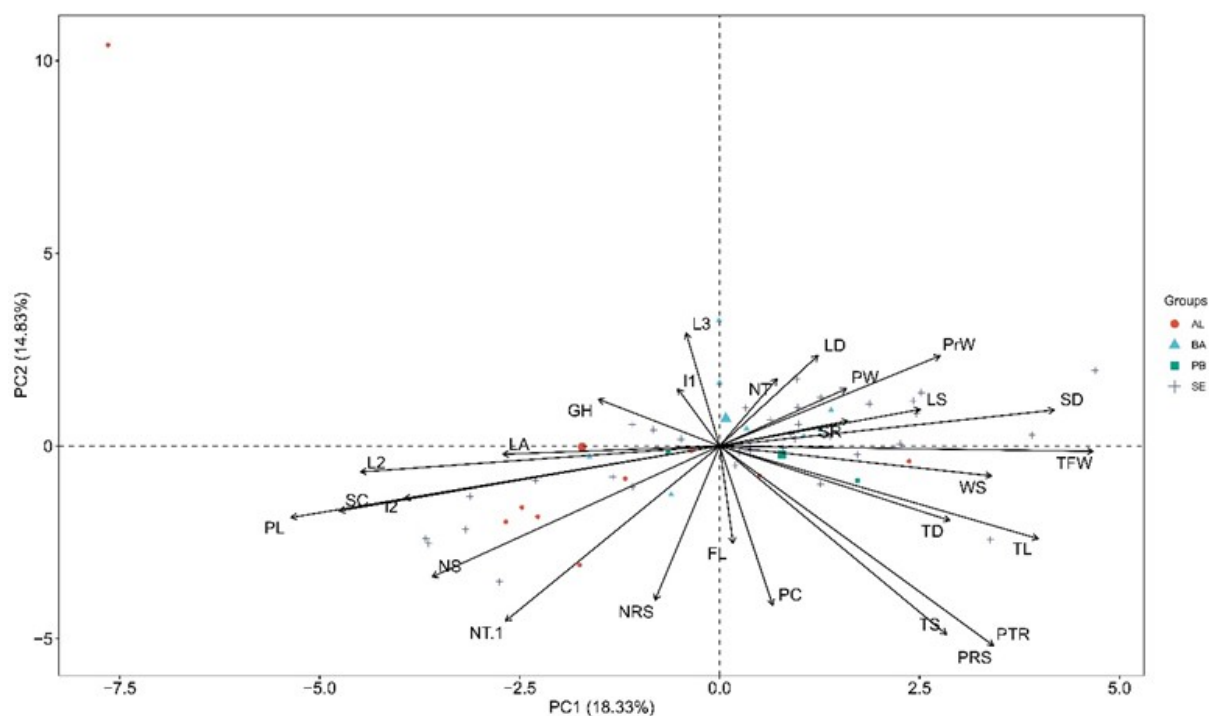


Figura 2 Análise de componentes principais (PC) para os 52 genótipos de *Dioscorea* sp. provenientes dos estados de Sergipe (SE), Bahia (BA), Alagoas (AL) e Paraíba (PB), baseado nas variáveis morfoagronômicas.

L3 – leaf lobe length; I1 – width in the center of the leaf; GH - Growth Habit; LA - leaf area; L2 – length from leaf apex to petiole insertion ; I2 – width of leaf lobes; PL - Petiole length; SC - Stem color; NT.1 - Number of tubes NS - Number of stems; FL – Flowering; PC - pulp color; TS - Tuber shape; PTR – Presence of tuber; PRS – Presence of root on the surface; TD - tuber diameter; TL - tuber length; WS - Wing size; TFW - tuber fresh weight; SD - Stem diameter; LS - Leaf shape; SR – Root support; PrW - Presence of wings; PW - Position of the wings; LD - lobular distance; NT - Number of thorns.

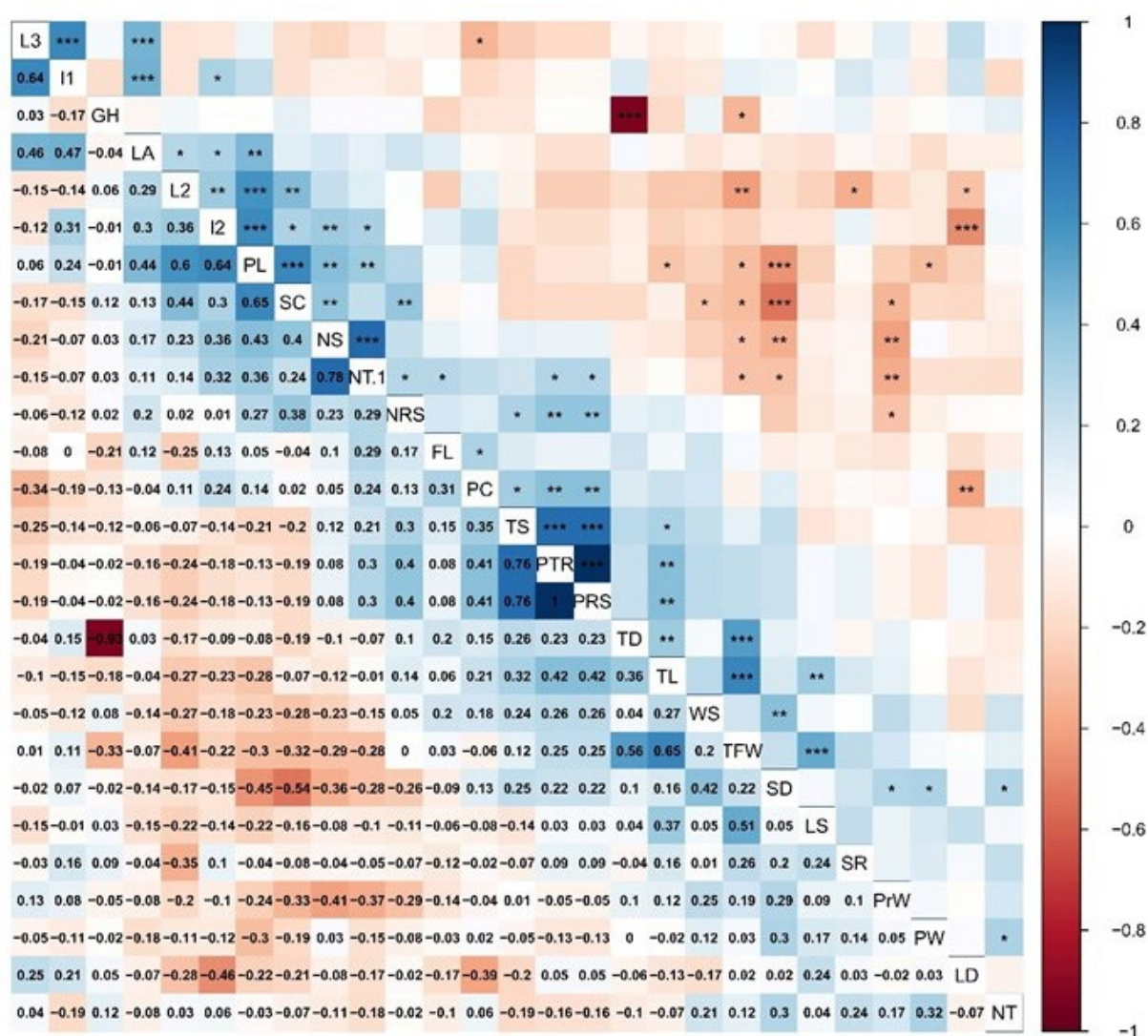


Figure 3 Coeficientes de correlação entre os descritores morfológicos avaliados em 52 genótipos de *Dioscorea* sp.

L3 - leaf lobe length; l1 - width in the center of the leaf; GH - Growth Habit; LA - leaf área; L2 - length from leaf apex to petiole insertion; l2 - width of leaf lobes; PL - Petiole length; SC - Stem color; NT.1 - Number of tubes NS - Number of stems; FL - Flowering; PC - pulp color; TS - Tuber shape; PTR - Presence of tuber; PRS - Presence of root on the surface; TD - tuber diameter; TL - tuber length; WS - Wing size; TFW - tuber fresh weight; SD - Stem diameter; LS - Leaf shape; SR - Root support; PrW - Presence of wings; PW - Position of the wings; LD - lobular distance; NT - Number of thorns.

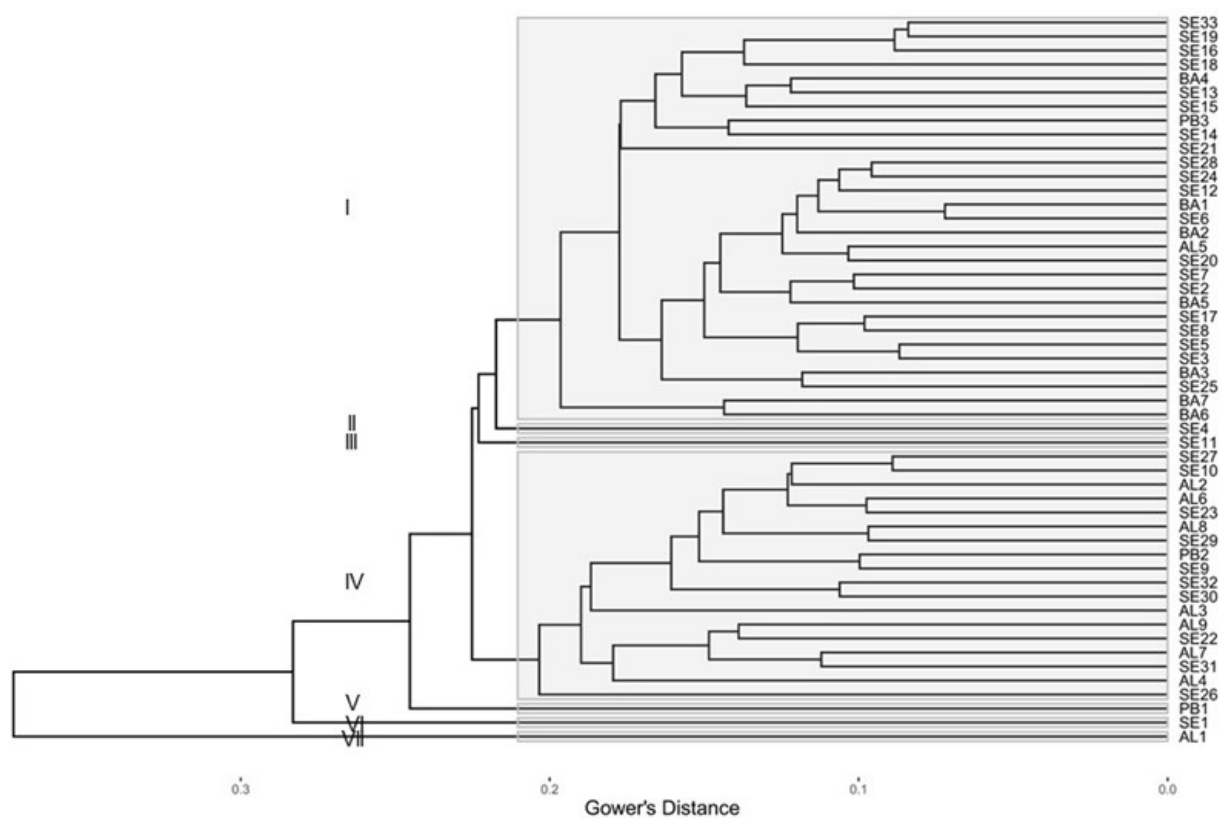


Figura 4 Dendrograma obtido por meio do método de agrupamento UPGMA com base na matriz de dissimilaridade de Gower's entre os 52 genótipos de *Dioscorea* sp.

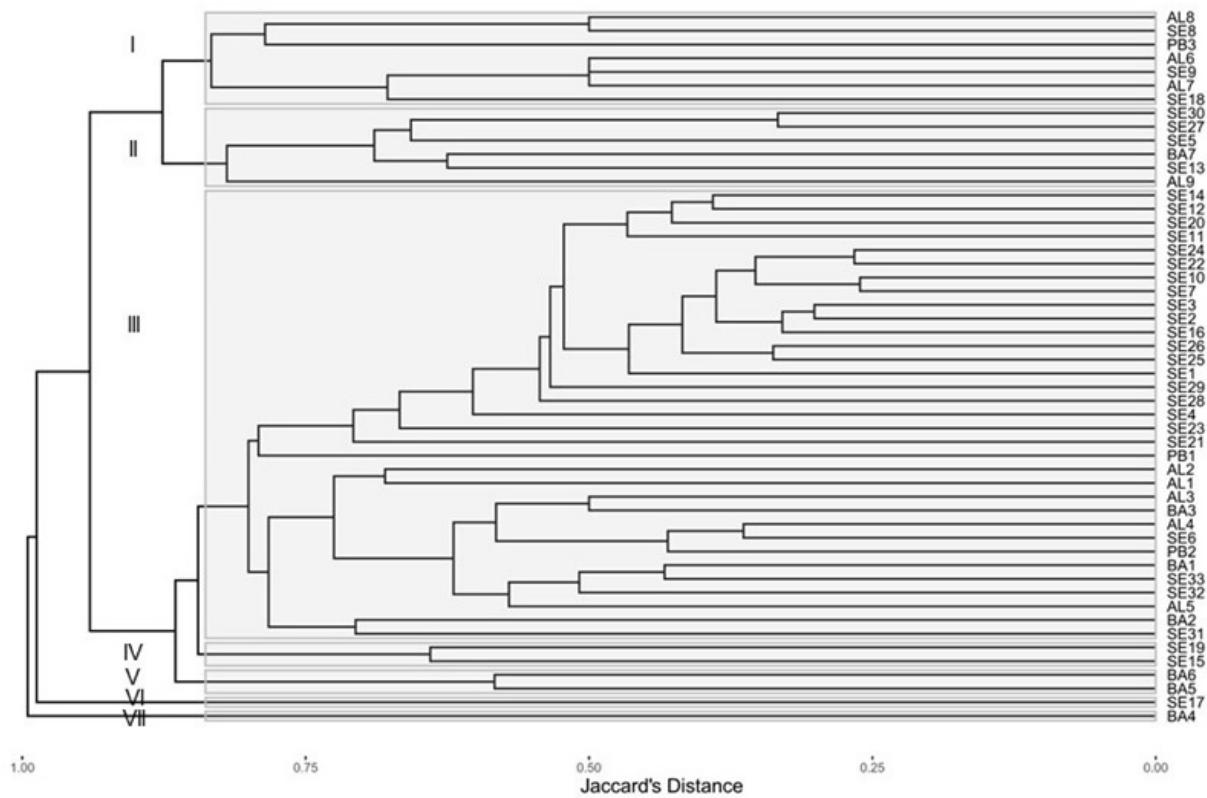


Figura 5 Dendrograma obtido por meio do método de agrupamento UPGMA com base na distância genética de Jaccard (Rogers, 1972) entre os 52 genótipos de *Dioscorea* sp.

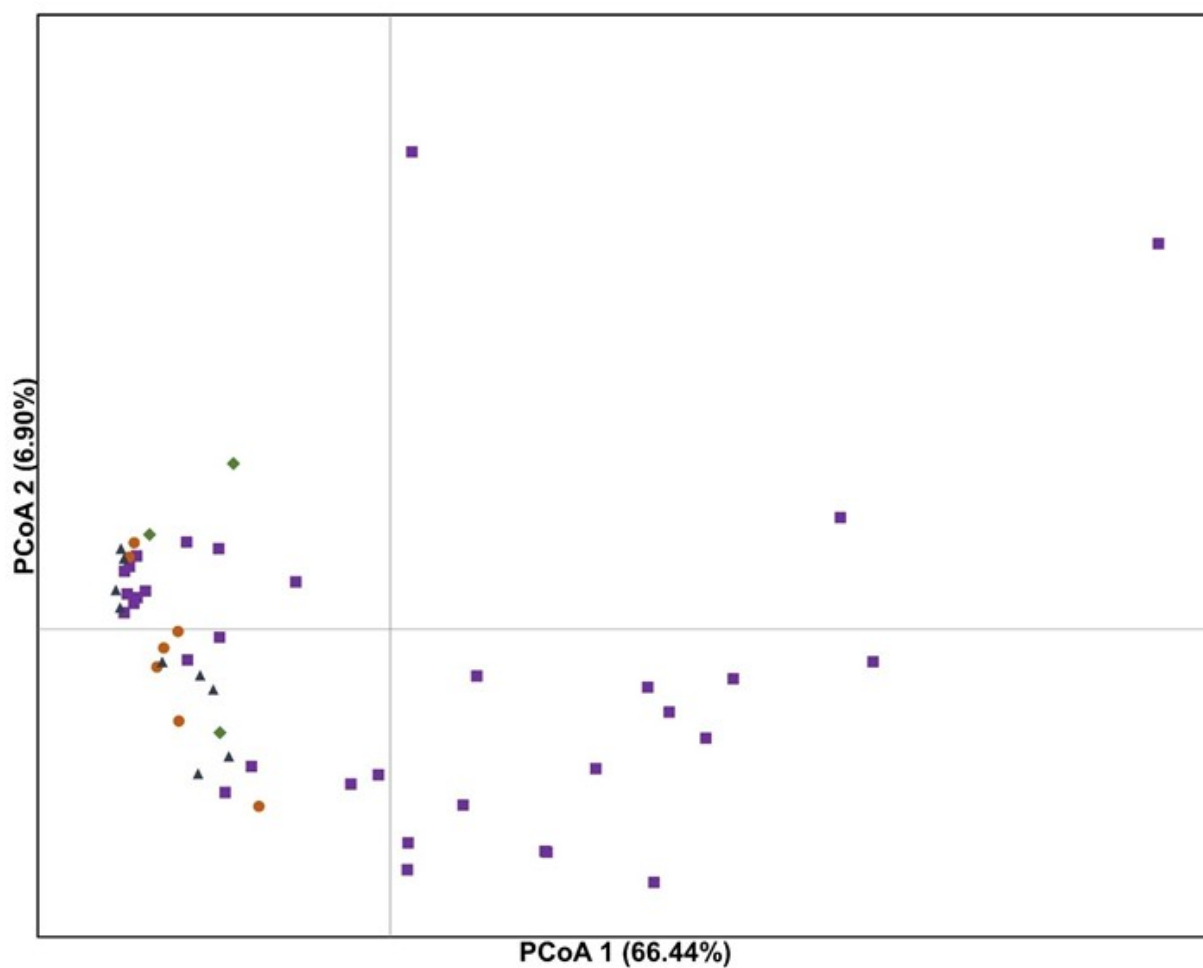


Figura 6 Análise de Coordenadas Principais (PCoA) para os 52 genótipos de *Dioscorea* sp. provenientes dos estados de Sergipe (SE – quadrados roxos), Bahia (BA – bolas laranjas), Alagoas (AL – triângulos azuis) e Paraíba (PB – losangos verdes).

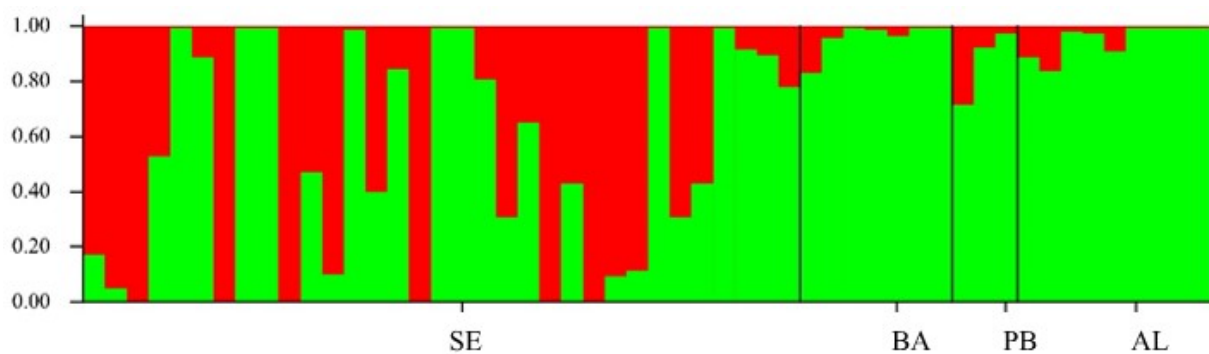


Figura 7 Estrutura genética estimada para 52 genótipos de *Dioscorea* sp. provenientes dos estados de Sergipe (SE), Bahia (BA), Alagoas (AL) e Paraíba (PB).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise bibliométrica forneceu informações sobre a estrutura das pesquisas publicadas na área de propagação e de caracterização molecular do gênero *Dioscorea*, revelando que países como Nigéria e China se destacam com publicações sobre as duas temáticas, e que as temáticas mais bem desenvolvidas e importantes estão relacionadas à cultura de tecidos e à caracterização molecular para estimativa da diversidade e estrutura genética.

Diante da necessidade de melhoria no sistema de produção de mudas de inhame, a tuberização *in vitro* pode ser uma alternativa viável, fornecendo microtubérculos para serem utilizados como material propagativo. Nesta pesquisa, observou-se que a concentração de sacarose, os espectros de luz e os reguladores de crescimento favoreceram a produção dos microtubérculos.

O estudo da diversidade genética é importante para o manejo, conservação e uso dos recursos genéticos de inhame. A alta diversidade genética observada entre os 52 genótipos de *Dioscorea* sp. pode ser importante para o desenvolvimento de estratégias para conservar a diversidade existente e para o planejamento de uso dos recursos genéticos disponíveis.