

REPRODUÇÃO DE *DIOSCOREA COMPOSITA*¹

ANA MARIA VIANA² e GIL MARTINS FELIPPE³

RESUMO - Experimentos realizados em Campinas, SP, com o objetivo de estudar a germinação de sementes e o enraizamento de estacas de inhame (*Dioscorea* spp.). As estacas usadas consistiam de lâmina foliar, pecíolo, pulvino e 1 cm de caule de cada lado da axila da folha. O enraizamento foi promovido em estacas tratadas com IBA. Não ocorreu enraizamento em estacas não tratadas. A germinação foi estudada com sementes armazenadas entre um e onze meses. As sementes perderam a sensibilidade à luz com o armazenamento. A taxa de germinação foi mais rápida para as sementes armazenadas por mais de oito meses do que para as armazenadas por períodos mais curtos.

Termos para indexação: inhame, germinação, enraizamento, estacas.

REPRODUCTION OF *DIOSCOREA COMPOSITA*

ABSTRACT - The experiments were carried out in Campinas, SP, Brazil, to study seed germination, and the rooting of cuttings of yam (*Dioscorea* spp.). The cuttings used consisted of leaf blade, petiole, pulvini and 1 cm of the plant stem above and under the leaf axil. Rooting was promoted in cuttings by IBA. No rooting occurred in untreated cuttings. Germination was studied with seeds stored from one to eleven months. With storage the seeds lost their sensibility to light. Germination rate was faster with seeds stored for over eight months than for the seeds stored for shorter periods.

Index terms: yam, germination, rooting, cuttings.

INTRODUÇÃO

A procura de fontes naturais de sapogeninas esteroidais, especialmente diosgenina, levou à descoberta de muitas espécies interessantes e de muitos tipos de sapogeninas. Estas foram detectadas em numerosas espécies dos gêneros *Agave*, *Yucca*, *Smilax*. A diosgenina, contudo, foi a sapogenina esteroidal mais comum presente em 43 espécies analisadas predominantemente entre as dioscóreas (Marker et al. 1943a, b). Os pesquisadores americanos concluíram que todas as dioscóreas do México analisadas (24 espécies) continham diosgenina em quantidades variando de 1,5% a 5% do peso do tubérculo (Marker et al. 1943a, b).

Em face de sua abundância, os inhames *Dioscorea mexicana*, *D. floribunda* e *D. composita* foram os mais explorados. Em *D. composita*, a quantidade de diosgenina detectada por Marker et al. (1943a) foi de 3% do peso seco do tubérculo. Em 1965, Cruzado et al. (1964) citado por Martin (1969) detectaram 13%

do peso seco. Segundo Coursey (1967), essa diferença no nível de diosgenina poderia ser devida a diferentes métodos de quantificação, mas Pal & Sharma (1980) mostraram que *D. composita* é uma espécie poliplóide, havendo populações com $2n = 30$, 36 ou 54 cromossomos, o que explicaria níveis tão diferentes desta substância.

No Brasil, as espécies de *Dioscorea* analisadas não apresentam níveis elevados de diosgenina, e o País, em 1980, importou oito milhões de dólares de hormônios esteroidais, segundo dados da Cacex (Varanda 1984), apesar de demonstrada a viabilidade de obtenção de hecogenina a partir do sisal (Rizzini & Mors 1976). Outras espécies apresentam potencial para fornecimento de sapogeninas esteroidais, como a *Yucca gloriosa*, mas a quantidade máxima obtida é de 0,9% do peso seco foliar (Varanda 1984). Estudos sobre a espécie de inhame chamada *Dioscorea composita* mostraram a viabilidade de seu cultivo em Porto Rico (Martin et al. 1966) e no litoral norte de São Paulo.

O cultivo, em larga escala, das espécies de inhame (*Dioscorea* spp.), tanto comestíveis como medicinais, possuidoras de tubérculos, tem apresentado problemas comuns. A variação do conteúdo de sapogeninas entre os clones exige métodos rápidos de propagação vegetativa para o desenvolvimento de indivíduos que produzam alta quantidade de diosgenina (Preston Júnior & Haun 1962). Os métodos de propagação disponíveis para as dioscóreas que produzem tubér-

¹ Aceito para publicação em 15 de dezembro de 1988.

² Bióloga, M.Sc., Dra., UNICAMP, Professora-Adjunta I, Dep. de Biologia, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC.

³ Biólogo, Ph.D., Edinburgh. Prof. - Titular, Dep. de Fisiol. Vegetal, Inst. de Biologia, Universidade de Campinas (UNICAMP), Caixa Postal 6109, CEP 13081 Campinas, Brasil.

culos também surgem como um fator limitante para o cultivo em larga escala (Finalmente... 1981). Nestes casos, são necessárias quantidades imensas de tubérculos para se obter um número relativamente pequeno de plantas, pois estes apresentam gemas pré-formadas apenas na parte superior, que origina os ramos aéreos. A região do tubérculo imediatamente inferior à região das gemas apresenta restos de tecido meristemático com potencial de formação de gemas, porém o processo é mais lento. A região inferior do tubérculo não apresenta potencial de regeneração, e é desprezada (Coursey 1967).

O enraizamento de estacas de caule é um importante meio de propagação vegetativa utilizado em reflorestamento e horticultura para produção em massa de material geneticamente melhorado (Nanda & Anand 1970). A utilização de auxinas para estimular o enraizamento de estacas foi a primeira aplicação prática dos hormônios vegetais na agricultura (Epstein & Lavee 1984). Auxinas sintéticas e naturais induzem a formação de raízes em estacas de caules. O IBA é a auxina geralmente usada como estimulador de enraizamento, por ser uma auxina fraca e não ser tão susceptível às enzimas que destroem outras auxinas. Outra auxina freqüentemente usada é o NAA (ácido naftaleno acético); entretanto, é mais tóxico. O IAA é muito instável e pode ser destruído pela luz. O IBA tem sido usado com sucesso na indução de raízes adventícias em espécies como *Pinus radiata* (Smith & Thorpe 1975), *Prunus persica* (Fachinello et al. 1982) e *Phaseolus vulgaris* (Bridgiall & Staden 1985).

Para algumas espécies de *Dioscorea* como, *D. floribunda*, *D. alata*, *D. rotundata*, *D. dumentorum*, *D. spiculiflora* e *D. belizensis*, o enraizamento pode ocorrer na ausência de auxinas (Preston & Haun 1962, Blunden et al. 1966, Coursey 1967). Para outras espécies, como *D. esculenta*, *D. trifida*, *D. deltoidea*, *D. sylvatica*, o enraizamento é problemático e, às vezes, impossível (Blunden et al. 1966, Cabanillas & Martin 1978, Zaag & Fox 1981). No caso do inhame *Dioscorea composita*, a máxima percentagem de enraizamento obtida com auxílio de Rootone F é de 43%, e a taxa de obtenção de plantas completas é ainda menor (Martin & Delpin 1969).

São poucos os estudos sobre a propagação por sementes de espécies de dioscóreas produtoras de sapogeninas. No caso da *D. composita*, as informações existentes são de que a germinação ocorre de duas a três semanas após a sementeira, sendo a luz um fator fundamental naquele processo. A germinação de sementes velhas é mais rápida, e estas podem

ser armazenadas por três anos ou mais, em refrigerador (Cruzado et al. 1964).

Neste experimento foi feito um estudo sobre a germinação de sementes e enraizamento de estacas de *D. composita*.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes do inhame *Dioscorea composita* Hemsl., usadas neste trabalho, foram obtidas da seção de raízes e tubérculos do Instituto Agrônomo de Campinas, e do Departamento de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.

As sementes foram armazenadas em saco de papel e mantidas a 25°C até 11 meses.

Os experimentos de germinação foram realizados sob luz branca fluorescente contínua com 320 μ W. cm^{-1} de irradiância (Marcondes-Ferreira & Felipe 1984), e no escuro, sob temperatura de 25°C. As sementes foram colocadas para germinar em placas-de-petri de 9 cm de diâmetro sobre papel de filtro umedecido com 5 ml de solução aquosa de Nystatin 0,02 mg. ml^{-1} .

Para todos os experimentos de enraizamento foram utilizadas estacas vegetativas do terço médio dos caules com 0,1 cm a 0,2 cm de diâmetro, obtidos de plantas de *D. composita*, com aproximadamente um ano, crescidas em condições naturais no canteiro do Departamento de Fisiologia Vegetal da UNICAMP. Os caules eram seccionados na base, e separados em três partes. A parte superior, contendo folhas não completamente expandidas, em geral menores que 6 cm de comprimento, era desprezada, assim como a parte basal do caule próxima ao décimo nó. Este critério foi adotado com base em resultados de análise de crescimento obtidos por Viana & Felipe (1984). As estacas constavam de meia lâmina foliar, pecíolo, pulvino e 1 cm de caule de cada lado do pecíolo.

Os caules eram coletados momentos antes do início dos experimentos, e colocados em bandeja com água, onde eram seccionados. As estacas obtidas, após o tratamento com ácido indolil-3-butírico (IBA), eram colocadas em bandeja de plástico contendo vermiculita lavada e umedecida. Estacas não tratadas com IBA foram utilizadas como controle. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, permanecendo sob sistema de nebulização que assegurava umidade relativa do ar de 50%.

A avaliação dos experimentos foi feita através da contagem, em períodos de dez dias, do número de estacas vivas no momento da verificação e número de estacas enraizadas. Foram utilizadas no mínimo dez estacas por tratamento.

As estacas enraizadas eram plantadas em vasos contendo solo e mantidas sob sistema de nebulização.

O IBA foi misturado com talco, de modo a prover concentrações de 2,5 a 20 mg. g^{-1} . Em todos os experimentos, exceto os realizados para testar as concentrações efetivas, foi utilizado IBA na concentração de 10 mg. g^{-1} . As superfícies dos caules eram umedecidas e a seguir colocadas em contato com a mistura contendo o regulador.

Os resultados de germinação foram submetidos à análise de variância; a DMS 5% foi calculada de acordo com o método de Tukey (Snedecor & Cochran 1967).

RESULTADOS

Reprodução vegetativa: enraizamento de estacas

Na Tabela 1, estão representadas as porcentagens máximas de estacas enraizadas em concentrações de IBA, variando de 0 a 20 mg.g⁻¹. Observa-se que as taxas de enraizamento verificadas para concentrações de IBA iguais e abaixo de 5 mg.g⁻¹ são menores que 34%, e que IBA 20 mg.g⁻¹ inibe a formação de raízes em relação a 10 mg.g⁻¹. Assim, a concentração de 10 mg.g⁻¹ parece ser a mais efetiva entre as testadas, promovendo enraizamento em mais que 60% das estacas. Em função destes resultados, foi utilizada a concentração de 10 mg.g⁻¹. Não houve enraizamento nas estacas não tratadas com IBA (válido para todos os experimentos).

Na Tabela 2 estão representadas as porcentagens de enraizamento de estacas tratadas com IBA 10 mg.g⁻¹ em dez experimentos realizados. Observa-se que o IBA, apesar da variação verificada, promove o enraizamento das estacas. Em apenas dois experimentos a percentagem de estacas enraizadas foi muito baixa (8%). Estes dois experimentos foram realizados durante o inverno, em condições naturais de Campinas, SP. Esses resultados foram observados após 50 dias da instalação do experimento.

Em alguns experimentos, as estacas enraizadas foram transferidas para vasos com solo, sob nebulização. Após 60 dias desta transferência, 25% das estacas produziram gemas de caule aéreo e tubérculos.

Reprodução sexuada: germinação de sementes

Sementes armazenadas por 1, 2, 3, 5, 8, 9, 10 e 11 meses, a 25°C, foram postas para germinar sob luz e escuro (apenas sob luz para as armazenadas por dois meses).

Na Fig. 1A estão representadas as curvas de germinação sob luz. A análise estatística para o dia 24 indica que os valores de germinação, após três meses de armazenamento, são significativamente maiores em relação aos obtidos com sementes armazenadas por um e dois meses. Para o 52º dia do experimento, verifica-se, entretanto, que não há diferença significativa entre os valores finais de germinação alcançados pelas sementes armazenadas por 1, 2, 3, 5, 8, 9, 10 e 11 meses.

No escuro (fig. 1B), observa-se que no 24º dia as sementes armazenadas por um mês germinaram significativamente menos do que as demais. No 52º dia do experimento, a análise estatística indica que as

TABELA 1. Efeitos de diferentes concentrações de IBA no enraizamento de estacas de *D. composita*. Média de cinco experimentos.

IBA mg.g ⁻¹	% de enraizamento
0	0
2,5	18
5,0	34
10,0	68
20,0	23

TABELA 2. Enraizamento de estacas de *D. composita* tratadas com IBA. Percentagem de estacas com raízes em dez experimentos no período de 40-49 dias.

Experimentos	% de enraizamento
1	43
2	75
3	91
4	75
5	91
6	8
7	8
8	100
9	100
10	40

sementes armazenadas por 1, 3 e 8 meses apresentam taxas de germinação significativamente menores do que as armazenadas por 9 e 11 meses.

Pela Fig. 1A, observa-se que as sementes armazenadas por períodos de oito meses, ou mais, germinam sob luz mais rapidamente do que as armazenadas por períodos de um a três meses, estabilizando a germinação em 20 dias, enquanto no caso das últimas, isto ocorre a partir do 32º dia do experimento. No escuro, a velocidade de germinação aumenta a partir do nono mês.

Na Fig. 2, estão representados os valores angulares da germinação máxima alcançada em luz e escuro, para cada período de armazenamento. Observa-se que em todos os períodos analisados a germinação é significativamente maior na luz do que no escuro, com exceção das sementes armazenadas por nove e onze meses, em que não há diferença significativa entre os valores de germinação sob luz e escuro. A semente perdeu o fotoblastismo.

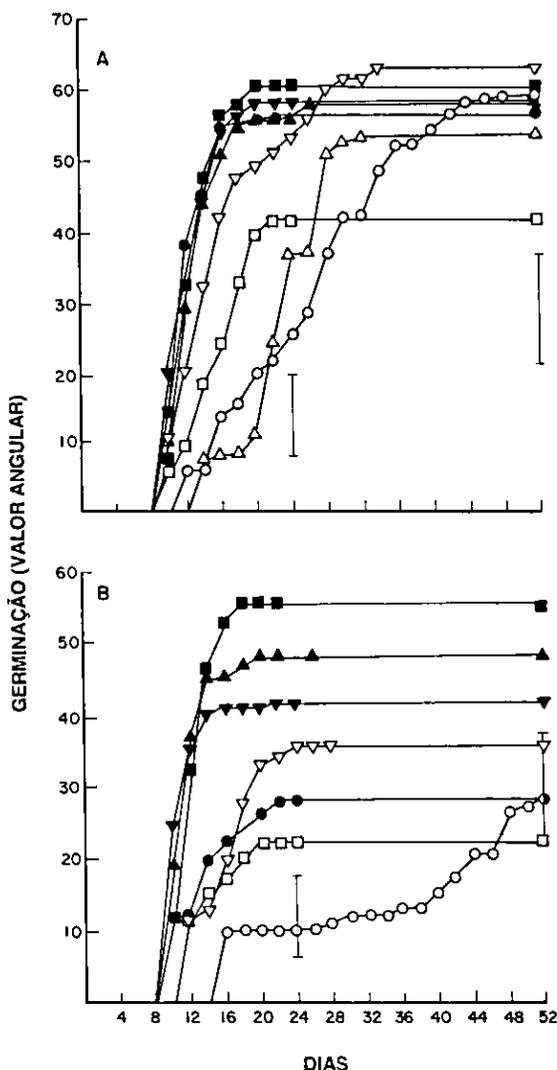


FIG. 1. Períodos entre 1 e 11 meses de armazenamento na germinação de sementes de *C. composita* sob luz branca e escuro, a 25°C. A: luz, B: escuro. Barras verticais: DMS 5%, ○ 1 mês; △ 2 meses; □ 3 meses; ▽ 5 meses; ● 8 meses; ▲ 9 meses; ▼ 10 meses; ■ 11 meses. Para 2 meses só houve experimento.

DISCUSSÃO

Em *D. composita*, o IBA foi mais efetivo em promover o enraizamento, em comparação com o composto Rootone F, utilizado por Martin & Delpin (1969). Apesar de a concentração de 20 mg.g⁻¹ ter sido inibitória, os resultados concordam com a ob-

servação de Gorter (1968), de que altas concentrações de auxina (até 10 mg.g⁻¹) induzem maior número de células parenquimatosas não diferenciadas a se diferenciarem em primórdio radicular e raízes. Para outras espécies de *Dioscorea*, como *D. alata*, a percentagem de enraizamento depende da variedade (Cabanillas & Martin 1978). Nas espécies que enraizam sem qualquer tratamento como *D. spiculiflora*, o enraizamento e a formação de novas plantas ocorrem depois de dez a quinze dias (Preston Júnior & Haun 1962), o que é um período razoavelmente rápido, em comparação com o verificado para *D. composita*.

As sementes recém-coletadas de *D. composita* apresentam dormência tanto na luz como no escuro, nos primeiros meses. Essa dormência é perdida com o decorrer do tempo.

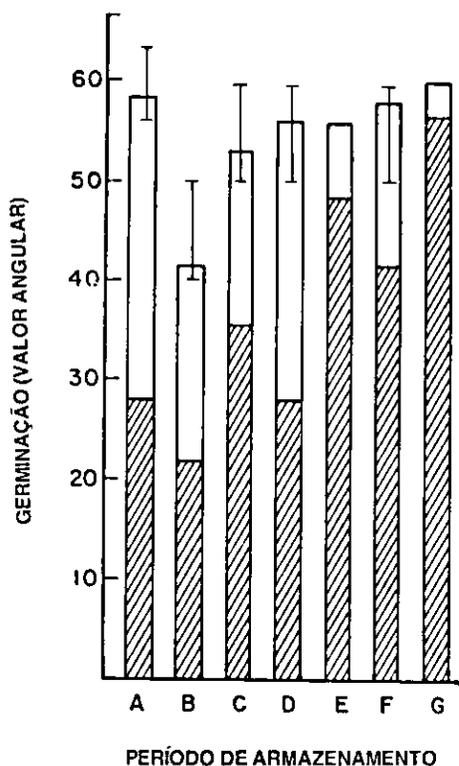


FIG. 2. Efeitos de períodos de armazenamento entre 1 e 11 meses na germinação máxima de sementes de *D. composita*. A - armazenamento por 1 mês; B - armazenamento por 3 meses; C - armazenamento por 5 meses; D - armazenamento por 8 meses; E - armazenamento por 9 meses; F - armazenamento por 10 meses; G - armazenamento por 11 meses; □ - luz; ▨ escuro. As barras verticais representam DMS 5%. F 5% não significativo entre luz e escuro para armazenamento por 9 e 11 meses.

Em outras espécies, têm sido detectados dois tipos de dormência que envolvem diferentes mecanismos: a dormência do embrião e a imposta pelo tegumento (Bewly & Black 1982).

No caso de *D. composita*, o tegumento não parece oferecer barreira à germinação. Como a dormência do embrião tem sido mostrada para outras espécies como *D. rotundata* e *D. opposita* (Sadik & Okereke 1975; Yakuna et al. 1981), certamente seria este o caso para *D. composita*.

As sementes necessitam de um período de pós-amadurecimento de aproximadamente nove meses para que a germinação ocorra por volta do décimo dia e atinja o máximo no vigésimo dia do experimento, independentemente de luz ou escuro. Cabanillas & Martín (1978), trabalhando com *D. composita*, mostraram que as sementes apresentam dormência até quatro semanas depois, resultado que não coincide com os obtidos neste trabalho.

Algumas espécies precisam de muitos anos para que ocorra o pós-amadurecimento, como *Cyperus*. Sementes recém-colhidas de alface e *Rumex* têm requisitos diferentes para a germinação depois de um período de armazenamento (Mayer & Poljakoff-Mayber 1982). O armazenamento também altera o fotoblastismo de maxixe (*Cucumis anguria* L.), semente fotoblástica negativa (Noronha et al. 1976). No caso de *D. composita*, a exigência de luz é o requisito que desaparece com o armazenamento a seco em temperatura ambiente.

O período pós-amadurecimento pode ser necessário para que ocorram modificações anatômicas, morfológicas ou químicas. Em algumas espécies, o embrião pode atingir a maturidade durante o processo de germinação (Bewly & Black 1982). Em *Annona crassiflora*, a semente demora cerca de 200 dias para germinar, até que o embrião amadureça (Rizzini 1973). Para sementes de *D. composita* embebidas em placa-de-petri, isto parece ocorrer em 50 dias (período em que é alcançada a germinação máxima) e a luz é necessária para o processo.

CONCLUSÕES

1. IBA a 10 mg.g⁻¹ é eficiente para causar enraizamento em estacas de *D. composita*. As estacas que não eram tratadas com IBA nunca enraizavam. As estacas enraizadas eram transferidas para vasos; em cerca de 60 dias, a partir da transferência, as estacas apresentavam caule aéreo e tubérculos.

2. A germinação final foi a mesma para sementes armazenadas entre um e onze meses. A germinação

foi sempre mais alta na luz do que no escuro, com exceção das armazenadas por nove e onze meses. Estas se mostraram indiferentes à luz.

AGRADECIMENTOS

A Sebastiana R.V. dos Santos, Dulce R.G. Joaquim e João Humberto Guimarães, por auxílio técnico.

REFERÊNCIAS

- BEWLEY, J.D. & BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination**; viability, dormancy and environmental control. s.l., Springer-Verlag, 1982. v.2, 375p.
- BLUNDEN, G.; HARDMAN, R.; TREASE, G.E. Some observations on the propagation of *Dioscorea belizensis* Lundell and other steroid-yielding yams. **Plant Med.**, **14**:84-9, 1966.
- BRIDGLALL, S.S. & STADEN, J. VAN. Effect of auxin on rooting and endogenous cytokinins levels in leaf cuttings of *Phaseolus vulgaris* L. **J. Plant Physiol.**, **117**:287-92, 1985.
- CABANILLAS, E. & MARTIN, F.W. The propagation of edible yams from cuttings. **J. Agric. Univ. Puerto Rico**, **62**:249-54, 1978.
- COURSEY, D.G. **Yams; an account of the nature, origins, cultivation and utilization of the useful members of Dioscoreaceae**. s.l., Longmans, 1967. 230p.
- CRUZADO, H.J.; CABANILLAS, E.; MARTIN, F.W.; DELPIN, H. Seed rest and seed viability in medicinal *Dioscorea* species. **Proc. Am. Soc. Hort. Sci.**, **84**:436-40, 1964.
- EPSTEIN, E. & LAVEE, S. Conversion of Indole-3-butyric acid to Indole-3-acetic acid by cuttings of grapevine (*Vitis vinifera*) and olive (*Oliva europea*). **Plant Cell Physiol.**, **25**:697-703, 1984.
- FACHINELLO, J.C.; KERSPEN, E.; MACHADO, A.A. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas lenhosas do pessegueiro cv. Diamante. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, **17**(2):247-52, 1982.
- FINALMENTE hay investigación sobre el ñame. **Ceres**, **14**:6-7, 1981.
- GORTER, C.J. Hormone translocation and rooting. In: VARDAR, Y., ed. **The Transport of plant hormones**. Amsterdam, North-Holland, 1968.
- MARCONDES-FERREIRA, W. & FELIPPE, G.M. Effects of light and temperature on the germination of spores of *Cyathea delgadü*. **R. bras. Bot.**, **7**:53-6, 1984.
- MARKER, E.L.; GOLDSMITH, D.P.J.; RUOF, C.H. Sterols CLVII; sapogenins LXIX; isolation and structure of thirteen new steroidal sapogenins, new sources for known sapogenins. **J. Am. Chem. Soc.**, **65**:1199-209, 1943a.

- MARKER, R.E.; WAGNER, R.B.; GOLDSMITH, H.; ULSHAFFER, D.P.; RUOF, C.H. Sterols. CLV; sapogenins LXVII; pennogenin, nologenin and fesogenin, three new sapogenins from beth root. *J. Am. Chem. Soc.*, **65**:1248-9, 1943b.
- MARTIN, F.W. The species of *Dioscorea* containing sapogenin. *Econ. Bot.*, **23**:373-9, 1969.
- MARTIN, F.W. & DELPIN, H. Techniques and problems in the propagation of sapogenin-bearing yams from cuttings. *J. Agr. Univ. Puerto Rico*, **53**:191-8, 1969.
- MARTIN, F.W.; CABANILLAS, E.; GASKINS, M.H. Economics of the sapogenin-bearing yam as a crop plant in Puerto Rico. *J. Agric. Univ. Puerto Rico*, **50**:53-64, 1966.
- MAYER, A.M. & POLJAKOFF-MAYBER, A. *The germination of seeds*. s.l., Pergamon Press, 1982. 211p.
- NANDA, K.K. & ANAND, V.K. Auxin effects on rooting. *Physiol. Plant.*, **23**:99-107, 1970.
- NORONHA, A.; VICENTE, M.; FELIPPE, G.M. Effect of storage and growth conditions on photoblasticity of seed of *Cucumis anguria*. *Hochnea*, **6**:7-10, 1976.
- PAL, A. & SHARMA, A.R. Analysis of cytotypes of *Dioscorea* and scope of increasing the diosgenin content. *La Cellule*, **73**:117-34, 1980.
- PRESTON JÚNIOR, W.H. & HAUN, J.R. Factors involved in the vegetative propagation of *Dioscorea spiculiflora* Hemsl. from vines. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.*, **80**:417-29, 1962.
- RIZZINI, C.T. Dormancy in seeds of *Anona crassiflora*. *Mart. J. Exp. Bot.*, **24**:117-23, 1973.
- RIZZINI, C.T. & MORS, W.B. *Botânica econômica brasileira*. São Paulo, EPU-EDUSP, 1976. 207p.
- SADIK, S. & OKEREKE, O.U. Flowering, pollen grain germination and seedling development of white yam *Dioscorea rotundata*. *Poir. Ann. Bot.*, **39**:597-604, 1975.
- SMITH, D.R. & THORPE, T.A. Root initiation in cuttings of *Pinus radiata* seedlings. *J. Exp. Bot.*, **26**:193-202, 1975.
- SNEDECOR, G. H. & COCHRAN, W.G. *Statistical methods*. Ames, The Iowa State University Press, 1967. 535p.
- VARANDA, E.M. Espécies de *Yucca* L., cultivadas no Brasil. *R. bras. Bot.*, **7**:37-9, 1984.
- VIANA, A.M. & FELIPPE, G.M. Crescimento foliar de *Dioscorea composita*. Anais do IV. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE DE BOTÂNICA DE SÃO PAULO, 4, Taubaté, 1984. *Anais*. . . Taubaté, T.S. Melhem, 1984.
- YAKUNA, T.; HARADA, T.; KASAI, N.; ARAKI, H. Studies on the botanical characteristics of genus *Dioscorea*. II. On the formation and germination of the seed in Chinese yam (cv Nagaimo). *J. Fac. Agric. Hokkaido Univ.*, **60**:220-26, 1981.
- ZAAG, P.V. & FOX, R.L. Field production of yams (*Dioscorea alata*) from stem cuttings. *Trop. Agric.*, **58**:143-4, 1981.