

Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Amaranthus cruentus* L., cv. BRS Alegria

***In vitro* establishment and multiplication of *Amaranthus cruentus* L., cv. BRS Alegria**

Gabriele Espinel¹, Rodrigo Da Silva Armesto², Alitcia Moraes Kleinowski³, Sidnei Deuner⁴, Eugenia Jacira Bolacel Braga⁵

RESUMO

A espécie *Amaranthus cruentus* tornou-se foco de interesse por seu alto valor nutricional e propriedades medicinal e nutracêuticas, chegando a ser considerada uma das novas culturas do milênio. Dentre seus benefícios estão prevenção de doenças como câncer e diabetes. A cultivar de amaranto, BRS Alegria, é a primeira recomendada para cultivo no Brasil e, apesar da sua importância medicinal, ainda não existem protocolos para cultivo *in vitro* para essa cultivar e possível exploração de seus compostos bioativos. Para tanto, este trabalho objetivou desenvolver protocolos de estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *A. cruentus*, cv. BRS Alegria, para que possam ser obtidas plantas com condições fitossanitárias adequadas para possível exploração dos seus compostos bioativos. Para a escolha do melhor meio de estabelecimento das plantas *in vitro*, sementes de amaranto, pré-germinadas em B.O.D., foram inoculadas em meio MS completo ou com 50% da concentração de sais, na presença e ausência de carvão ativado. Após a definição do melhor meio, foram testados diferentes sistemas de vedação de frascos - erlenmeyers, vedados com algodão ou alumínio e frascos tipo conservas, com tampa plástica ou alumínio. Em ambos os experimentos, as plantas permaneceram durante 35 dias, em sala de crescimento a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 16 horas de fotoperíodo e $48 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de densidade de fluxo de fótons, sendo posteriormente avaliadas quanto à taxa de sobrevivência (%) e contaminação (%). Para a multiplicação, as plantas obtidas foram transferidas para os seguintes meios de cultura: MS 50% combinado com $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ cinetina (CIN); $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de CIN + $0,01$ de ácido α -naftaleno acético (ANA); $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de CIN + $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA. Após 35 dias, foram avaliados altura das plantas, número médio de gemas e brotos, massa fresca e seca de parte aérea, comprimento e massa seca de raízes. Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. No meio de cultivo MS 50% foi obtido a maior porcentagem de sobrevivência (100%) e a menor porcentagem de contaminação (0%). Para o experimento realizado com diferentes sistemas de vedação, os explantes mantidos em erlenmeyers vedados com algodão, apresentaram a maior média de sobrevivência, indicando ter ocorrido facilitação nas trocas gasosas e processos fotossintéticos. Na fase de multiplicação, o meio MS 50% promoveu os maiores valores para altura de plantas, número médio de gemas, massa fresca e seca de parte aérea, comprimento e massa seca de raízes. O tratamento com 1 mg L^{-1} de CIN expressou as menores médias nas análises de crescimento, exceto para número médio de brotos, onde obteve o maior valor, com 2,11, apontando realocação de energia para brotações em detrimento dos crescimentos em altura e

radicular. Os resultados evidenciam o efeito da redução da concentração de sais e da sacarose do meio MS sobre variáveis morfogênicas em plantas micropropagadas, viabilizando ainda a redução dos custos de produção. O meio MS 50%, em frasco tipo erlenmeyer com vedação de algodão, é indicado para estabelecimento e multiplicação *in vitro* da espécie *A. cruentus*, cv. BRS Alegria.

Palavras – chave: amaranto, propriedades nutraceuticas, compostos bioativos.

ABSTRACT

The specie *Amaranthus cruentus* became a focus of interest for its high nutritional value and nutraceutical properties, coming to be considered one of the new cultures of the millennium. Among its benefits are the prevention of diseases such as cancer and diabetes. The BRS Alegria amaranth cultivar is the first recommended in Brazil. Despite the medicinal importance, there are still no protocols for *in vitro* cultivation of this cultivar and possible exploitation of its bioactive compounds. Therefore, this work aimed to develop *in vitro* establishment and multiplication protocols of *A. cruentus* cv. BRS Alegria. For the accomplishment of the first stage, amaranth seeds pre germinated in B.O.D. were inoculated in MS medium, complete or at 50% of the salt concentration, with or without activated charcoal. The second experiment evaluated the performance of different sealing systems, being erlenmeyer flasks, capped with cotton or aluminum, and tall flasks, with plastic's lid or aluminum. In both experiments, the plants were kept for 35 days, in a growth room at 25 ± 2 ° C, 16 hours of photoperiod and $48 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ of photon flux density, and were subsequently evaluated for the survival (%) and contamination (%). In the second step, the explants obtained were multiplied in the following culture media: MS 50%; 1.0 mg L^{-1} kinetin (KIN); 1.0 mg L^{-1} KIN + 0.01 mg L^{-1} ANA; 0.5 mg L^{-1} KIN + 0.01 mg L^{-1} ANA. After 35 days, there were evaluations of explant's height, average number of gems and shoots, fresh and dry matter of shoot, length and dry weight of roots. The data were submitted to analysis of variance ($p \leq 0.05$) and the means compared by the Tukey test at the 5% level of error probability. The highest percentage of survival and the lowest contamination were obtained in the 50% MS culture medium, with rates of 100% and 0%, respectively. For the experiment carried out with different sealing systems, the explants kept in cotton-covered erlenmeyers showed the highest survival rate, indicating that gas exchange and photosynthetic processes were facilitated. In the multiplication phase, the MS 50% medium exposed the highest values for explants height, average number of gems, fresh and dry matter of aerial part, length and dry matter of roots. The treatment with 1 mg L^{-1} of KIN showed the lowest averages in the growth analyses, except for the average number of shoots, where it obtained the highest value, with 2.11, indicating reallocation of energy for shoots at the expense of aerial part and radicular growth. The results evidenced the effect of reducing the concentration of salts and sucrose of the MS medium on morphogenic variables in micropropagated plants, also making possible the reduction of production costs. The 50% MS medium in a cotton-lined erlenmeyer flask is indicated for *in vitro* establishment and multiplication of *A. cruentus* cv. BRS Alegria.

Keywords: amaranth, nutraceutical properties, bioactive compounds.

INTRODUÇÃO

Os produtos alimentares funcionais vêm sendo altamente solicitados no mercado global (KRAUS, 2015), em função do interesse do consumidor por dietas capazes de conferir benefícios à saúde (ANNUNZIATA; VECCHIO, 2011). Neste contexto, a espécie *Amaranthus cruentus* L. conhecida como amaranto ou caruru, tornou-se foco de interesse, não só por seu alto valor nutricional, mas também devido às suas propriedades medicinais e nutracêuticas, chegando a ser considerada uma das novas culturas do milênio (RASTOGI; SHUKLA, 2013; VELARDE - SALCEDO et al., 2013).

Dentre os benefícios inerentes à espécie, cita-se o elevado conteúdo de fitosteróis (sitosterol, campesterol e stigmasterol), moléculas capazes de combater a hipercolesterolemia (PLATE; ARÊAS, 2002; MARCONE et al., 2003). Além de outros fitoquímicos, presentes em abundância, como compostos fenólicos, que possuem fortes propriedades antioxidantes, sendo associados à prevenção de doenças como câncer, arteriosclerose e diabetes (NEUDECK et al., 2012).

Por seu caráter medicinal, o amaranto é recomendado a gestantes, lactantes, pacientes com constipação, febre, hemorragia e anemia, podendo ainda auxiliar no aumento da imunidade de portadores do vírus HIV (QUINTON, 2006; MUTHAURA et al., 2007).

Grande parte destes componentes benéficos à saúde humana, proveniente dos alimentos de origem vegetal, deve-se ao metabolismo secundário das plantas (GAWLIK - DZIKI et al., 2013). Nos vegetais, estes compostos funcionam em defesa contra estresses bióticos ou abióticos ou em interações benéficas com outros organismos. E alguns desses produtos naturais, já são usados por seres humanos como produtos farmacêuticos, cosméticos, perfumes e corantes (ZHOU et al., 2011).

Visando atender esta demanda, a técnica do cultivo in vitro vem sendo utilizada para a produção de compostos de interesse para as indústrias de alimentos, cosméticos e fármacos (SHIM et al., 2010). Esta técnica permite o uso de

elicitores (agentes químicos e estressantes), para alterar as rotas metabólicas afetando qualitativamente e quantitativamente as moléculas bioativas produzidas (DJILIANOV et al., 2005).

Para alcançar o sucesso da cultura *in vitro*, são necessários requisitos essenciais para o ótimo estabelecimento das plântulas, sendo fundamental a concentração de nutrientes no meio, devido a cada espécie apresentar comportamento diferenciado no seu desenvolvimento pertinente às características genéticas (KOZAI et al., 1997; PEREIRA et al., 1999).

Geralmente utiliza-se como meio nutritivo padrão o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), composto de macro e micronutrientes, vitaminas, aminoácidos e fonte de carbono (SU et al., 2012). Além destes fatores, respostas positivas são alcançadas com um balanço adequado dos reguladores de crescimento, sendo os mais utilizados, as citocininas e as auxinas (XAVIER et al., 2009). As concentrações dos mesmos variam de acordo com o estágio de micropropagação e em função da espécie e do tipo de explante (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

A cultivar BRS Alegria é a primeira recomendada para plantio no Brasil (SPEHAR et al., 2003) e, apesar da importância medicinal e nutracêutica, ainda não existem protocolos para seu cultivo *in vitro*. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver protocolos de estabelecimento e multiplicação *in vitro* para a espécie *A. cruentus*, cv. BRS Alegria, para que possam ser obtidas plantas com condições fitossanitárias adequadas para possível exploração dos seus compostos bioativos.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do experimento, sementes de amaranto foram dispostas em papel tipo “germitest”, previamente umedecido com água destilada, acondicionado em placas de petri, e levadas à câmara de germinação onde permaneceram por 48 horas em temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, no escuro. As plântulas obtidas foram inoculadas nos meios de cultivo, em câmara de fluxo laminar em condições assépticas. Utilizou-se meio MS, com pH ajustado para 5,8, acrescido de 7 g L^{-1} de ágar. Aproximadamente 40 mL dos meios foram colocados em frascos tipo erlenmeyer, vedados com algodão, e autoclavados por 20 minutos à temperatura de 121°C e pressão de $1,05 \text{ kg cm}^{-2}$. Os meios de cultivo testados para o estabelecimento foram:

meio MS completo (MS), MS + 1 g L⁻¹ de carvão ativado (CA), meio MS 50% (MS 50%), MS 50% + 1 g L⁻¹ de CA.

Posteriormente, foram testados sistemas de vedação. Para este experimento, utilizou-se o meio de cultura com o melhor resultado no experimento anterior (MS 50%), que foi distribuído em frascos altos (tipo conserva) com capacidade para 300 mL, vedados com alumínio ou tampa plástica, e em erlenmeyers de 250 mL, vedados com alumínio ou algodão. As plantas foram mantidas em sala de crescimento a 25 ± 2°C, 16 horas de fotoperíodo e 48 μmol m⁻² s⁻¹ de densidade de fluxo de fótons, por 35 dias, sendo posteriormente avaliadas quanto a % de sobrevivência e de contaminação.

Em ambos os experimentos o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (meios de cultura e sistemas de vedação), sendo cada um composto de três repetições e a unidade experimental representada por três frascos contendo quatro explantes, totalizando 36 frascos/experimento.

Os dados foram submetidos à análise de variância (p≤0,05) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro por meio do Programa Estatístico WinStat 1.0 (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2007).

Para o experimento de multiplicação foram utilizados os seguintes tratamentos: MS 50% sem reguladores de crescimento (controle); MS 50% com 1,0 mg L⁻¹ de CIN; MS 50% com 1,0 mg L⁻¹ de CIN + 0,01 mg L⁻¹ de ANA; e MS 50% com 0,5 mg L⁻¹ de CIN + 0,01 mg L⁻¹ de ANA. Os explantes provenientes da fase de estabelecimento foram inoculados nos meios citados, permanecendo em sala de crescimento conforme descrito anteriormente. Após 35 dias, foram avaliados quanto à altura, número de gemas e brotos, massa fresca e seca de parte aérea, comprimento e massa seca de raízes.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos (composição do meio de cultivo), sendo cada um composto de três repetições, onde a unidade experimental foi representada por três frascos contendo quatro explantes, totalizando 36 frascos. Os dados foram avaliados de acordo com metodologia já citada para os experimentos anteriores.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição do meio de cultivo é essencial para o ótimo desempenho do explante, pois reúne os nutrientes necessários ao seu desenvolvimento, podendo ser formulado com diferentes combinações de acordo com a necessidade nutricional de cada espécie (VILLA et al., 2014). A maior porcentagem de sobrevivência e a menor de contaminação foram obtidas no meio de cultivo MS 50%, com taxas de 100% e 0%, respectivamente (Tabela 1).

Estes resultados podem ser corroborados por Monfort et al. (2012) os quais afirmam que a concentração de 15 g L⁻¹ de sacarose favoreceu o desenvolvimento de plantas medicinais de *Ocimum selloi* Benth., cultivadas nesse tipo de meio in vitro. Contudo, não houve diferença estatística para a segunda variável analisada, pois todos os tratamentos apresentaram baixa contaminação, indicando assepsia e manipulação adequadas dos explantes. Segundo os autores supracitados, maiores concentrações de sacarose aumentam o efeito osmótico do meio de cultura, podendo prejudicar o desenvolvimento da plântula cultivada. Esta afirmação pode justificar o desempenho dos meios com maiores concentrações desse carboidrato na composição, MS, 13,88% e MS + CA, 16,66%, os quais exibiram médias menores para percentuais de sobrevivência.

Além disso, o meio MS é considerado um meio de cultura com altas concentrações de sais e, neste estudo, constatou-se que a diminuição da concentração favoreceu o crescimento das raízes. Frequentemente, o alongamento radicular é inibido por NH₄⁺ e promovido por NO₃⁻ (MONFORT et al., 2015). Pode ter ocorrido maior relação de nitrato/amônio, em meio com menor concentração de nitrogênio, auxiliando no enraizamento, favorecendo o sucesso e a sobrevivência da plântula (MONFORT et al., 2015).

TABELA 1– Porcentagens de sobrevivência e contaminação observadas no estabelecimento *in vitro* de plantas de *Amaranthus cruentus*, cv. BRS Alegria, cultivados durante 35 dias em diferentes meios de cultura

Meios de cultivo	Sobrevivência %	Contaminação %
MS	13,88 c	2,77 a
MS + CA	16,66 c	5,55 a
MS 50%	100 a	0 a
MS 50% + CA	36,11b	2,77 a

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade de erro.

Os efeitos promotores do carvão ativado podem ser principalmente atribuídos a sua função de retenção de compostos tóxicos presentes no meio de cultura, como por exemplo, o 5–hidroximetil-furfural, produzido a partir da desidratação da sacarose durante a autoclavagem, substâncias inibitórias presentes no ágar ou também por reduzir a ação de outros metabólitos como fenóis, os quais são eliminados pelo explante. A presença de carvão ativado em plântulas de mandioca (*Manihot esculenta*) *in vitro* acarretou redução no crescimento, sugerindo competição deste componente com os sais do meio de cultura, tornando-o indisponível para serem absorvidos pelas raízes das plântulas (ROCA et al., 1984). Pode-se inferir, a partir dos resultados, que a dose utilizada afetou negativamente o crescimento dos explantes de amaranto, reduzindo significativamente a taxa de sobrevivência.

Para o experimento testando diferentes sistemas de vedações, a maior taxa de sobrevivência foi apresentada pelas plantas mantidas em erlenmeyer fechados com algodão, com média de 97,22%, sendo estatisticamente superior às demais (Tabela 2).

Tabela 2 - Porcentagens de sobrevivência e contaminação observadas no estabelecimento *in vitro* de explantes de *Amaranthus cruentus*, cv. BRS Alegria, cultivados durante 35 dias em diferentes frascos e vedações

Tipo de frasco e vedação	Sobrevivência (%)	Contaminação (%)
Erlenmeyer + algodão	97,22 a	0 a
Erlenmeyer + alumínio	69,44 b	0 a
Frasco + tampa plástica	25 c	0 a
Frasco + alumínio	27,77 c	0 a

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

O sistema de vedação convencional, com tampa plástica, previne a desidratação de plantas e do meio de cultura, evitando também a contaminação. No entanto, neste sistema ocorre elevada concentração de etileno e redução de CO₂, restrição no fluxo de fótons fotossinteticamente ativos e limitação de trocas gasosas, prejudicando as taxas de transpiração e a fotossíntese. Os processos de absorção de água e nutrientes são dificultados, acarretando em redução da taxa de crescimento dos explantes (ZOBAYED et al., 2002; KOZAI et al., 2005; XIAO et al., 2011).

Provavelmente, ocorreram estes distúrbios nos outros sistemas testados, pois neles as vedações empregadas possuem menor porosidade quando comparados ao algodão. O desempenho superior dos erlenmeyers em relação aos frascos altos, pode ser explanado por Buffa Filho et al. (2002), os quais sugerem que recipientes menores favorecem a oxigenação e incorporação de CO₂.

É essencial que a praticidade de manuseio durante as fases da propagação seja considerada na escolha de um recipiente de cultivo. Desse modo, frascos de tamanho grande e médio apresentam-se pouco práticos, principalmente pela necessidade do uso de pinças longas para o manuseio das plântulas (NICOLOSO; ERIG, 2002). Não foram observadas contaminações neste experimento.

No experimento de multiplicação foram observadas diferenças estatísticas ($p < 0,05$) em todas as variáveis analisadas. O meio MS 50% apresentou os maiores valores para altura dos explantes, número médio de gemas, massa fresca e seca de parte aérea, comprimento e massa seca de raízes (Figura 1A a 1F).

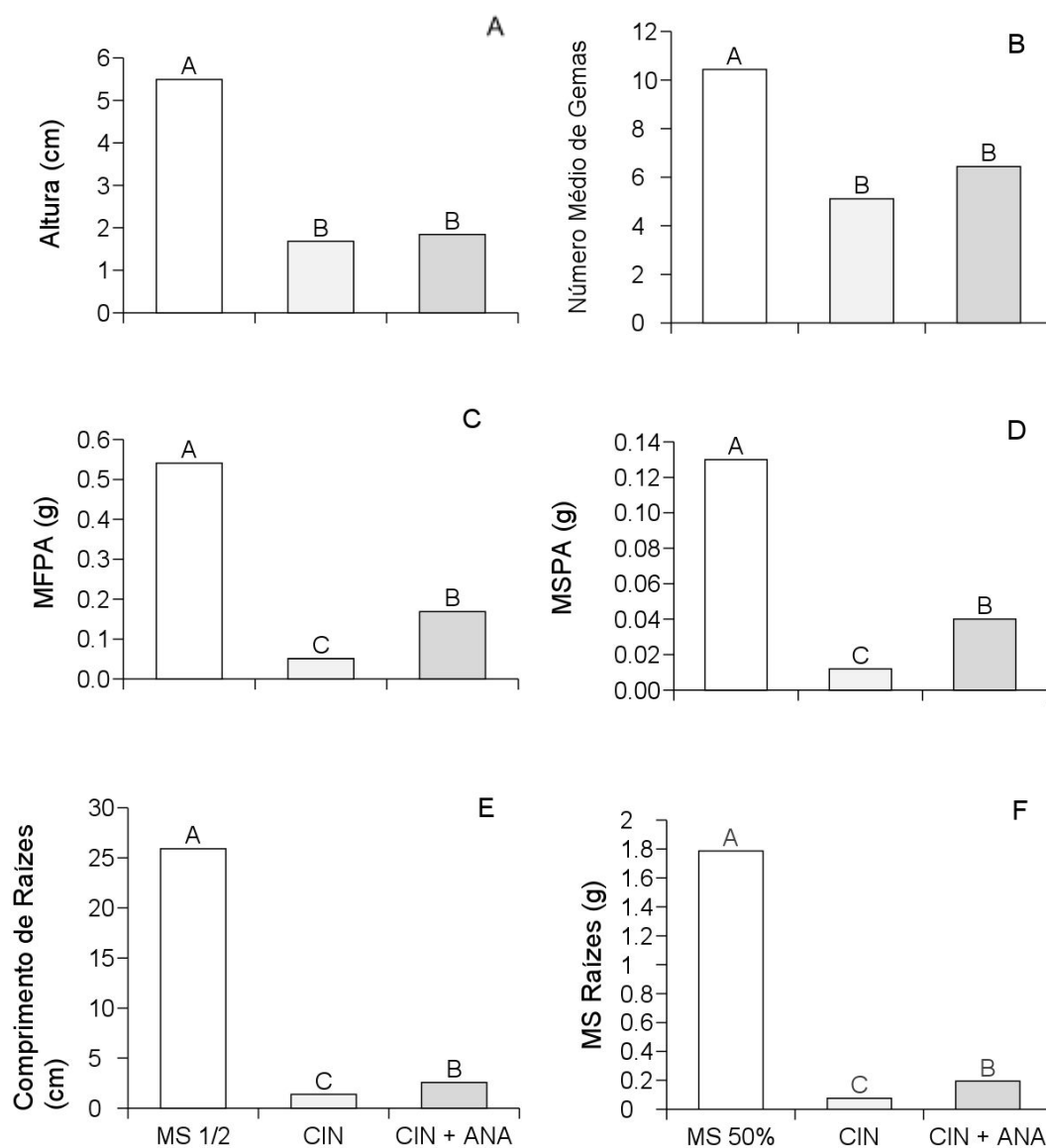


Figura 1- Altura (A), número médio de gemas (B), massa fresca de parte aérea (MFPA) (C), massa seca de parte aérea (MSPA) (D), comprimento de raízes (E) e massa seca de raízes (MS Raízes) (F) em plantas de *Amaranthus cruentus*, cv. BRS Alegria, cultivadas *in vitro*, por 35 dias, em meio de cultura com diferentes composições. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Os resultados observados podem ser corroborados por Bandinelli et al. (2013), os quais afirmam que a redução da concentração de sais e sacarose do

meio MS tem mostrado efeito sobre variáveis morfogênicas em plantas micropropagadas. Os explantes expostos ao tratamento 0,5 mg L⁻¹ de CIN + 0,01 mg L⁻¹ de ANA não sobreviveram.

A altura das plantas é uma variável importante, pois está diretamente relacionada com o número de nós que serão recuperados em novas brotações (MOREIRA et al., 2003), conseqüentemente permitindo maior multiplicação. Dzazio et al. (2002), concluíram ser possível a multiplicação do porta-enxerto de videira '420'-A em meio MS 50%, isento de reguladores de crescimento, corroborando os resultados apresentados neste trabalho. Castro et al. (2003), estudando a multiplicação in vitro de *Limonium brasiliensis*, verificaram que os meios MS e MS 50%, sem a presença de reguladores de crescimento, para a variável número de brotações por explante, alcançaram valores médios de 2,3, mostrando assim que a diferença de concentração de sais em até 50% pode ser útil à redução dos custos de produção comercial dessas mudas. De acordo com estudos realizados por Vieira et al. (2009), com cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), o aumento nas concentrações dos reguladores de crescimento, no meio de cultura, não implica, necessariamente, no melhor desenvolvimento das brotações, havendo um limite sutil entre a indução e a inibição, o que é específico para cada espécie vegetal.

Para que ocorra a morfogênese in vitro é necessário que haja sinalização específica por reguladores de crescimento os quais agem de modo a alterar a fisiologia e morfologia da planta, o que pode ocasionar modificações qualitativas e quantitativas na produção (GUERRA; NODARI, 2006). A formação de órgãos depende do balanço entre citocinina e auxina (KERBAUY, 1997), sendo capaz de promover a formação de raízes, parte aérea ou calo.

Os explantes cultivados na presença de CIN ou ANA expressaram redução na massa fresca e seca de parte aérea, comprimento e massa seca de raízes quando comparadas ao controle. Estes resultados indicam desenvolvimento e funcionamento ineficientes do sistema radicular, prejudicando a absorção de nutrientes e sacarose, reduzindo a energia disponível para o crescimento da parte aérea, pois a massa seca permite inferir a respeito da incorporação de carbono e da qualidade da planta. Tal desempenho deve-se ao fato de auxinas serem variáveis

que mais influenciam no enraizamento, e a adição de outros biorreguladores é desnecessária ou até prejudicial (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Quando a concentração de auxina no meio é excessiva, ocorre formação de calo na base do explante, comprometendo a rizogênese e o crescimento da parte aérea (RADMANN et al., 2002). Conforme Rohr; Hanus (1987), as respostas às auxinas não são universais, pois certas espécies, nem mesmo em sua presença conseguem enraizar, enquanto outras dispensam o uso de hormônios enraizadores. Neste experimento o uso do meio MS completo prejudicou o crescimento da raiz. Isso sugere que altas concentrações do meio básico do MS podem ser tóxicas para o crescimento da raiz ou ainda causar efeito osmótico.

Isutsa (2004) não obteve diferença quanto a porcentagem de enraizamento *in vitro* de *Passiflora edulis*, ao utilizar 20 ou 30 g L⁻¹ de sacarose, observando em ambas 100% de enraizamento. Segundo Monfort et al. (2015), a diferença da concentração de sais no meio básico é um fator importante na indução de raízes. Normalmente, alta concentração inibe e, baixa induz o enraizamento. Segundo Biasi et al. (1998) ao estudarem videiras (*Vitis vinifera*), verificaram que a concentração de 50% dos sais do MS maximizou o número de raízes por planta. Já para as cultivares MC e Adams de marmeleiro (*Cydonia oblonga*), o uso de 75% da concentração dos sais do MS proporcionou aumento na porcentagem de enraizamento, número e comprimento médios das raízes (ERIG et al., 2004). Para cultivares de morangueiro, Pereira et al. (1999) constataram ser a redução da concentração dos sais favorável ao enraizamento e à formação de raízes.

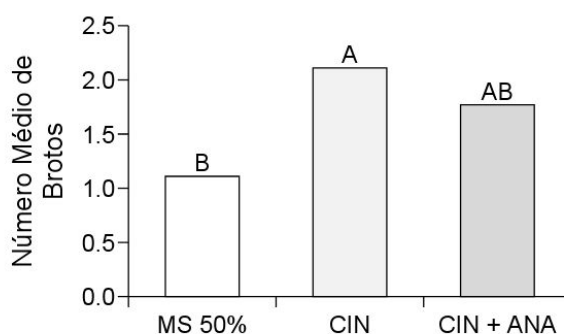


Figura 2- Número médio de brotos em plantas de *Amaranthus cruentus*, cv. BRS Alegria, cultivadas *in vitro*, por 35 dias, em meio de cultura com diferentes

composições. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Segundo Torres et al. (1998), o uso de citocininas estimula maior produção de parte aérea através do aumento da massa fresca, número de gemas e folhas. Grattapaglia e Machado (1998) ressaltaram ser a cinetina muito eficaz em promover a multiplicação de plantas, sendo uma das principais citocininas utilizadas no cultivo *in vitro* para melhorar a micropropagação, com aumento no número de gemas, folhas e brotos, induzindo acréscimo na produção de massa fresca e qualidade das plantas cultivadas. Entretanto, isto não foi observado no presente trabalho, pois as menores médias para massa fresca e seca de parte aérea, foram apresentadas pelas plantas tratadas com 1 mg L⁻¹ de CIN, com os valores de 0,051 g, 0,012 g, respectivamente. Ainda, de acordo com o mesmo autor, a utilização de concentrações mais elevadas, acima da ótima para a multiplicação da espécie em estudo pode inibir o desenvolvimento dos referidos órgãos. Além disto, este tratamento obteve as médias mínimas para comprimento e massa seca de raízes, com 1,38 cm e 0,076 g. Todavia, este regulador de crescimento promoveu o maior número médio de brotos, com média de 2,11, diferindo estatisticamente dos demais (p<0,05) (Figura 2). Tais resultados sugerem realocação de energia para brotações em detrimento dos crescimentos de parte aérea e radicular.

CONCLUSÃO

O meio MS 50% sem adição de reguladores de crescimento e o uso de erlenmeyer com vedação de algodão, são os mais indicados para estabelecimento e multiplicação *in vitro* da espécie *A. cruentus*, cv. BRS Alegria, pois neste as plantas conseguem obter maior taxa de sobrevivência e desenvolver melhor suas brotações e raiz, permitindo maior percentual de explantes para serem utilizados na micropropagação.

REFERÊNCIAS

ANNUNZIATA, A.; VECCHIO, R. Factors affecting Italian consumer attitudes toward functional foods. 2011.

BANDINELLI, M. et al. Concentração dos sais e da sacarose do meio MS na multiplicação in vitro e na aclimatização de batata. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 242-247, 2013.

BIASI, L. et al. Micropropagação do porta-enxerto de videira Jales. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. 10, p. 1587-1594, 1998.

BUFFA FILHO, W. et al. Indução de metabólitos bioativos em culturas de células de *Maytenus ilicifolia*. **Eclética Química**, v. 27, n. 1es, 2002.

CASTRO, K. et al. Multiplicação in vitro de *Limonium brasiliensis* (BOISS.) Kuntze: diferentes concentrações de BAP e sais minerais no meio de cultura. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS**. Lavras: UFLA, 2003. p. 132.

DJILIANOV, D. et al. In vitro culture of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. **Plant cell, tissue and organ culture**, v. 80, n. 1, p. 115-118, 2005.

DZAZIO, P. et al. Micropropagation of '420-A' grapevine rootstock. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 759-764, 2002.

ERIG, A. et al. Enraizamento in vitro e aclimatização de mudas de marmeleiro cvs. MC e Adams, utilizadas como porta-enxerto para a pereira. **Scientia Agraria**, v. 5, n. 1-2, 2004.

GAWLIK-DZIKI, U. et al. Antioxidant and anticancer activities of *Chenopodium quinoa* leaves extracts—in vitro study. **Food and Chemical Toxicology**, v. 57, p. 154-160, 2013.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C. et al. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. 1. ed. Brasília: SPI/Embrapa - CNPH, 1998. p. 183-230. v. 1.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. **Introdução ao conceito de Biotecnologia**. Edição da Steinmacher, 2006.

ISUTSA, D. K. Rapid micropropagation of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims.) varieties. **Scientia Horticulturae**, v. 99, n. 3, p. 395-400, 2004.

KERBAUY, G. B. Clonagem de plantas in vitro. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 1, n. 1, p. 30-33, 1997.

KOZAI, T. et al. Environmental control for the large-scale production of plants through in vitro techniques. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 51, n. 1, p. 49, 1997.

KOZAI, T. et al. Photoautotrophic (sugar-free medium) micropropagation systems for large-scale commercialization. **Propagation of ornamental plants**, v. 5, n. 1, p. 23-34, 2005.

KRAUS, A. Development of functional food with the participation of the consumer. Motivators for consumption of functional products. **International Journal of Consumer Studies**, v. 39, n. 1, p. 2-11, 2015.

MACHADO, A. A.; CONCEIÇÃO, A. R. WinStat—Sistema de Análise Estatística para Windows versão 1.0. Universidade Federal de Pelotas. 2007.

MARCONE, M. F. et al. Amaranth as a rich dietary source of β -sitosterol and other phytosterols. **Plant Foods for Human Nutrition (Formerly Qualitas Plantarum)**, v. 58, n. 3, p. 207-211, 2003.

MONFORT, L. et al. Effect of BAP on in vitro culture of *Ocimum selloi* Benth. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 3, p. 458-463, 2012.

MONFORT, L. et al. Micropropagação e germinação de sementes in vitro de atoveran. **Revista Ceres**, v. 62, n. 2, p. 215-223, 2015.

MOREIRA, M. et al. Etiolated in micropropagation of cv. Pérola Pineapple plant. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 5, p. 1002-1006, 2003.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

MUTHAURA, C. N. et al. Antimalarial activity of some plants traditionally used in treatment of malaria in Kwale district of Kenya. **Journal of ethnopharmacology**, v. 112, n. 3, p. 545-551, 2007.

NEUDECK, L. et al. The contribution of edible wild plants to food security, dietary diversity and income of households in Shorobe Village, northern Botswana. **Ethnobotany Research and Applications**, v. 10, p. 449-462, 2012.

NICOLOSO, F.; ERIG, A. Efeito do tipo de segmento nodal e tamanho do recipiente no crescimento de plantas de *Pfaffia glomerata* in vitro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 1, p. 1499-1506, 2002.

PEREIRA, J.S. et al. Enraizamento in vitro do morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duchesne) em diferentes concentrações do meio MS. **Ciência Rural**, v. 29, n. 1, p. 17-20, 1999.

PLATE, A.; ARÊAS, J. Cholesterol-lowering effect of extruded amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) in hypercholesterolemic rabbits. **Food Chemistry**, v. 76, n. 1, p. 1-6, 2002.

QUINTON, I. Indigenous spinach. **Go farming for the farmers of tomorrow**, p. 20, 2006.

RADMANN, E. et al. Efeito de auxinas e condições de cultivo no enraizamento in vitro de porta-enxertos de macieira'M-9'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 03, p. 624-628, 2002.

RASTOGI, A.; SHUKLA, S. Amaranth: a new millennium crop of nutraceutical values. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 53, n. 2, p. 109-125, 2013.

ROCA, W. et al. Effect of various factors on minimal growth in tissue culture storage of cassava germplasm. In: **Proc. sixth symposium of the international society for tropical root crops**. Lima, Peru. 1984. p. 441-446.

ROHR, R.; HANUS, D. Vegetative propagation of wavy grain sycamore maple. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 17, n. 5, p. 418-420, 1987.

- SHIM, K. et al. Accumulation of cell biomass anthraquinones, phenolics, and flavonoids as affected by auxin, cytokinin, and medium salt strength in cell suspension culture of *Morinda citrifolia*. **원예과학기술지**, v. 28, n. 2, p. 288-294, 2010.
- SPEHAR, C. et al. Amaranth BRS Alegria: alternative for diversification of cropping systems. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 38, n. 5, p. 659-663, 2003.
- SU, M. et al. Polpa de banana e fertilizantes comerciais no cultivo in vitro de orquídea. **Científica**, v. 40, n. 1, p. 28-34, 2012.
- TORRES, A. et al. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Embrapa-SPI: Embrapa-CNPQ, 1998.
- VELARDE - SALCEDO, A. J. et al. In vitro inhibition of dipeptidyl peptidase IV by peptides derived from the hydrolysis of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) proteins. **Food chemistry**, v. 136, n. 2, p. 758-764, 2013.
- VIEIRA, R. et al. Diferentes concentrações de 6-benzilaminopurina e cinetina na micropropagação in vitro das variedades RB867515 e RB855156 de cana-de-açúcar. **Campo Digital**, v. 4, n. 1, p. 122-126, 2009.
- VILLA, F. et al. Micropropagação de híbridos de orquídea em meio knudson com adição de vitaminas do meio ms, benzilaminopurina e carvão ativado. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, 2014.
- XAVIER, A. et al. Silvicultura clonal: princípios e técnicas. **Viçosa: Universidade Federal de Viçosa**, p. 272, 2009.
- XIAO, Y. et al. Development and application of photoautotrophic micropropagation plant system. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 105, n. 2, p. 149-158, 2011.
- ZHOU, M. et al. Production and metabolic engineering of bioactive substances in plant hairy root culture. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 90, n. 4, p. 1229-1239, 2011.

ZOBAYED, S. A. et al. Multiple shoot induction and leaf and flower bud abscission of Annona cultures as affected by types of ventilation. **Plant cell, tissue and organ culture**, v. 69, n. 2, p. 155-165, 2002.