



AValiação DO EFEITO ANTIFÚNGICO DA QUITOSANA NA PROPAGAÇÃO IN VITRO DO BAMBU GUADUA

GUSTAVO RUBENS DE CASTRO TORRES

RESUMO

O bambu guadua possui alto valor comercial e ambiental e, portanto, necessidade de pesquisa sobre propagação *in vitro* cujas técnicas são opção ao atendimento da demanda de mudas para estabelecimento de plantios comerciais, mas apresenta a contaminação microbiana como fator limitante. Trabalhos destacam eficácia na redução da contaminação na micropropagação de espécies de bambu a partir de fungicidas e antibióticos. No entanto, se faz necessário testar produtos de baixa toxicidade ao ser humano e ambiente. O estudo teve como objetivo avaliar o efeito antifúngico da quitosana adicionada em diferentes concentrações ao meio de cultivo MS na fase de estabelecimento da propagação *in vitro* do bambu guadua por microestacas. A pesquisa foi realizada com a condução em delineamento inteiramente casualizado por 14 dias de dois experimentos independentes a partir de explantes mantidos em meio de cultivo MS semissólido acrescido ou não com diferentes concentrações de quitosana: 0, 50, 100, 150 e 300 mg L⁻¹ no primeiro experimento e 0, 300; 400 e 500 mg L⁻¹, no segundo. Verificou-se em ambos que o número médio de explantes contaminados por fungo em tratamentos cujo meio de cultivo recebeu a adição de quitosana não diferiu significativamente daquele no qual a quitosana estava ausente e o mesmo foi observado no caso do número médio de explantes com gemas necrosadas, com gemas brotadas, e em relação ao tamanho médio do maior broto. As concentrações de quitosana testadas não tiveram efeito sobre a redução da contaminação fúngica ou desenvolvimento de explantes na fase de estabelecimento da propagação *in vitro* do bambu guadua.

Palavras-chave: Controle; Fungos; Contaminantes; Micropropagação; *Guadua angustifolia*.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil, dentre os países das Américas, é considerado como destaque em relação às potencialidades de exploração do bambu por possuir maior diversidade de espécies e mais alto índice de florestas endêmicas da gramínea da América Latina. Dentre 19 espécies de bambu apontadas como prioritárias pelo International Network for Bamboo and Rattan (INBAR), guadua (*Guadua angustifolia* Kunth) possui alto valor para comercialização, indústria rural e regeneração ambiental, porém com alta necessidade de pesquisa sobre propagação *in vitro* (TORRES; LEMOS, 2017).

A propagação do bambu por métodos vegetativos tradicionais visando o estabelecimento de plantios comerciais, é cara e de baixo rendimento, no entanto, as técnicas de propagação *in vitro* se destacam como opção vantajosa para atender a demanda de mudas, porém, apresentam como fator limitante a contaminação microbiana (TORRES; HOLLOU; SOUZA, 2016).

Diferentes protocolos publicados apontam alcance na redução da contaminação microbiana na propagação *in vitro* de espécies de bambu por métodos químicos como: a)

desinfestação de explantes em soluções de etanol, hipoclorito de sódio e cloreto de mercúrio, isoladas ou em combinação, em diferentes concentrações e intervalos de tempo no pré-tratamento; b) imersão dos explantes, no pré-tratamento, em solução de fungicidas e antibióticos e; c) desinfestação com etanol, hipoclorito de sódio, hipoclorito de cálcio ou cloreto de mercúrio e posterior deposição em meios de cultivo contendo fungicidas (TORRES; LEMOS, 2017).

A contaminação na micropropagação provém de microrganismos epifíticos e endofíticos, razão pela qual produtos antimicrobianos com ação superficial não garantem a assepsia do material. Some-se a isso o fato de trabalhar com produtos que oferecem riscos à saúde e ao meio ambiente, e a possibilidade de microrganismos se tornarem resistentes. Assim, é necessário testar técnicas alternativas de controle com ação sobre um amplo espectro de microrganismos, sem o uso de produtos químicos (TORRES *et al.*, 2019).

Novas alternativas para o controle de microrganismos têm sido investigadas como é o caso dos biopolímeros dentre os quais se destaca a quitosana, um mucopolissacarídeo linear de baixo custo, com características de atoxidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade. Na agricultura, a quitosana tem desempenhado diversas funções, como, a proteção das plantas contra pragas e doenças antes e após a colheita, melhoria da ação de microrganismos antagonistas e controles biológicos, melhorar as interações benéficas entre plantas e microrganismos simbióticos; e regular o crescimento e desenvolvimento das plantas (LIMA; BONILLA; LUCENA, 2022)

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito antifúngico da quitosana adicionada em diferentes concentrações ao meio de cultivo MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) na fase de estabelecimento da propagação *in vitro* do bambu guadua por microestacas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Pesquisas Aplicadas à Biofábrica – LAPAB do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste - CETENE a partir da condução de dois experimentos independentes como parte integrante das atividades realizadas pelo autor, bolsista BCT nível 1 (nº de processo BCT-0365-5.01/17) e orientador do projeto de inovação intitulado “Micropropagação *in vitro* de *Guadua angustifolia* a partir de microestacas para produção massal de mudas” aprovado pelo edital FACEPE 02/2017 - Apoio a Projetos de Pesquisa do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste - CETENE sob nº de processo APQ-0039- 5.01/17.

Experimento 1 – Avaliação do efeito antifúngico da quitosana adicionada nas concentrações 0, 50, 100, 150 e 300 mg L⁻¹ em meio de cultivo MS na fase de estabelecimento da propagação *in vitro* do bambu guadua por microestacas.

O experimento 1 foi lançado e conduzido em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos constituídos por 20 repetições. Cada repetição correspondeu a um explante de *G. angustifolia* com três gemas mantido por 14 dias em meio de cultivo MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) semissólido (8,5 g de ágar L⁻¹) com a concentração total de sais, sacarose, 8 mg L⁻¹ de PPM (Plant Preservative MixtureTM, Plant Cell Technology), 50 mg L⁻¹ de ácido cítrico, 50 mg L⁻¹ de ácido ascórbico, 200 mg L⁻¹ de cloranfenicol, não acrescido de fitorregulador e suplementado ou não com quitosana comercial, de média massa molar (400.000 g mol⁻¹) e com grau de acetilação médio entre 68-75% (Sigma-Aldrich) nas seguintes de corresponderam a cada tratamento: T₁- 0 mg L⁻¹, T₂- 50 mg L⁻¹, T₃- 100 mg L⁻¹, T₄- 150 mg L⁻¹ e; T₅- 300 mg L⁻¹.

Os explantes foram obtidos a partir da coleta de microestacas correspondentes a brotos emitidos de touceiras de *G. angustifolia* oriundas da propagação *in vitro* e mantidas

no telado do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste. As microestacas foram selecionadas com base na coloração das folhas que cobriam os nós (bege) e dos entrenós (marrom-avermelhados), colhidas cortando-se com tesoura a metade do primeiro entrenó basal surgido a partir do substrato, depositadas em becker com água, levadas ao laboratório onde tiveram o número de gemas estabelecido em três (contadas no sentido da base para o ápice) e medidas quanto ao comprimento e diâmetro.

As microestacas, agora explantes, foram depositadas em garrafa autoclavável com capacidade para 200 mL onde acrescentou-se 200 mL de água destilada não estéril com duas gotas de Tween 20 e manteve-se sob agitação por 30 min, quando ao término foram enxaguadas em água destilada não estéril. Em seguida foram imersas em 200 mL de solução de 4 mL L⁻¹ de Derosal 500 SC® (suspensão concentrada de CARBENDAZIM 500 g L⁻¹, Bayer S/A) e 200 mg L⁻¹ de cloranfenicol mantida sob agitação por 1 hora com posterior enxágue em água destilada não estéril.

Os explantes foram conduzidos à câmara de fluxo laminar e procedida a imersão em 200 mL de solução de hipoclorito de sódio a 0,6% durante 10 minutos sob agitação e seguida de três enxágues consecutivos em água destilada estéril por 1 minuto. Após o último enxágue, procedeu-se o corte de 1 a 2 mm das extremidades dos explantes visando remover o tecido que ainda estivesse sob a ação do hipoclorito de sódio.

Os explantes foram então separados em cinco conjuntos de 20 unidades para compor as 20 repetições dos tratamentos testados e foram depositados individualmente em tubos de ensaio contendo o meio de cultivo MS semissólido cuja composição e suplementação quanto às diferentes concentrações de quitosana a compor os tratamentos foram citadas anteriormente.

Os tubos foram tampados, transferidos para sala de cultivo e incubados a 24 ± 2°C e fotoperíodo de 16 h sob luminosidade de 32 µmol m⁻² s⁻¹, onde o experimento foi conduzido por 14 dias após a instalação, quando então foi realizada a avaliação das variáveis: necrose (número de explantes com gemas necrosadas), contaminação fúngica (número de explantes com contaminação fúngica), brotação (número de explantes com gemas brotadas) e tamanho do maior broto em centímetros. Também foi avaliada a localização do micélio no tubo e a posição do micélio sobre o explante.

Em relação à localização do micélio no tubo, três locais foram considerados: a) sobre o meio (micélio em desenvolvimento na superfície do meio de cultivo); b) no explante (micélio em desenvolvimento na superfície do explante ou na superfície deste e expandindo-se dentro do meio a uma distância máxima correspondente ao diâmetro do explante) e; c) dentro do meio (micélio em desenvolvimento no interior do meio atingindo distância superior ao diâmetro do explante). No caso da posição do micélio sobre o explante, considerou-se três locais: a) terço apical (localizado a partir da metade do entrenó entre a gema mediana e superior até o corte apical do explante); b) terço médio (localizado da metade do entrenó entre a gema superior e mediana até a metade do entrenó entre essa gema e a inferior) e; c) terço basal (situado entre a metade do entrenó entre a gema mediana e a inferior até o corte inferior do explante). Os dados de todas as variáveis foram submetidos à análise de variância e as médias transformadas em $\sqrt{X+1}$ foram comparadas pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro sendo apresentados os valores originais.

Experimento 2 - Avaliação do efeito antifúngico da quitosana adicionada nas concentrações 0, 300, 400 e 500 mg L⁻¹ em meio de cultivo MS na fase de estabelecimento da propagação *in vitro* do bambu guadua por microestacas

O experimento 2 diferiu do experimento 1 apenas em relação às concentrações de quitosana adicionadas ao meio de cultivo que corresponderam aos tratamentos: T₁- 0 mg L⁻¹, T₂- 300 mg L⁻¹, T₃- 400 mg L⁻¹ e T₄- 500 mg L⁻¹. Neste experimento não foi avaliada a

localização do micélio no tubo ou sobre o explante.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os explantes apresentaram comprimento médio de $6,47 \pm 1,58$ cm e diâmetro médio de $0,90 \pm 0,19$ mm no experimento 1 e a partir dos resultados obtidos na avaliação aos 14 dias (Tabela 1) foi possível constatar que a quitosana nas concentrações testadas não teve efeito sobre a ocorrência da contaminação fúngica uma vez que não houve diferença significativa entre as médias do número de explantes contaminados nos tratamentos correspondentes aos meios de cultivo acrescidos com quitosana e o tratamento cujo meio não recebeu esta adição.

Quanto ao desenvolvimento dos explantes, não foi evidenciado efeito da quitosana. A afirmação fundamentou-se no fato de que o número médio de explantes com gemas necrosadas e com gemas brotadas, bem como o tamanho médio do maior broto não diferiu significativamente quando foram comparados os explantes mantidos em meio com a adição de quitosana nas diferentes concentrações e o no meio no qual não foi adicionada (Tabela 1).

Tabela 1 Médias* de: explantes com gemas necrosadas (Necrose), com contaminação fúngica (Fungo) e com gema brotada (Brotação); tamanho do maior broto em centímetros (T.M.B.) e Coeficiente de Variação (C.V.) aos 14 dias após a instalação do experimento 1

Tratamentos	Necrose	Fungo	Brotação	T.M.B. (cm)
T ₁ -0 mg L ⁻¹ quitosana	10 ab	19 a	15 a	0,82 a
T ₂ -50 mg L ⁻¹ quitosana	5 b	20 a	17 a	0,91 a
T ₃ -100 mg L ⁻¹ quitosana	15 a	16 a	15 a	0,87 a
T ₄ -150 mg L ⁻¹ quitosana	6 b	20 a	15 a	1,04 a
T ₅ -300 mg L ⁻¹ quitosana	9 ab	20 a	15 a	0,76 a
C.V.(%)	16,67	6,21	13,50	26,00

*Médias seguidas de mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade de erro pelo Teste de Tukey.

Thorat *et al.* (2016) ao testarem o efeito da adição de quitosana sobre a contaminação fúngica na propagação *in vitro* de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) verificaram que houve diferença significativa quanto à média de explantes contaminados quando comparou o tratamento correspondente ao meio suplementado com a maior concentração de quitosana (0,005%) em relação aos demais que receberam concentrações inferiores a deste e até em relação àquele que não recebeu quitosana. Neste tratamento de maior concentração, a contaminação correspondeu a 16,67% e no tratamento sem quitosana foi próximo a 60%. Já no presente estudo, mesmo na concentração mais elevada (300 mg L⁻¹) a contaminação fúngica ocorreu em 100% dos explantes.

Os resultados obtidos por Thorat *et al.* (2016) e na presente pesquisa foram semelhantes no que diz respeito a não ter havido interferência da quitosana no desenvolvimento dos explantes. Os referidos autores não observaram diferença significativa na média de germinação dos explantes comparando os tratamentos que não receberam a suplementação de quitosana no meio com aqueles que receberam. O mesmo fato foi verificado no presente estudo quando se observou não haver diferenças significativas entre os tratamentos em relação ao número médio de explantes com gemas brotadas e tamanho médio do maior broto (Tabela 1).

Embora não tenha ocorrido diferença significativa entre os tratamentos quanto ao número médio de explantes contaminados por fungo, a análise da localização do micélio no

tubo possibilitou identificar que no caso do tratamento correspondente à adição de 300 mg L⁻¹ de quitosana ao meio, este apresentou número significativamente menor de micélio se desenvolvendo sobre e dentro do meio, enquanto que em relação ao desenvolvimento do micélio no explante foi significativamente maior neste tratamento em relação aos demais. Tais resultados demonstram que a adição da quitosana na maior concentração testada embora não tenha reduzido a ocorrência de contaminação fúngica, limitou o crescimento do fungo deixando-o restrito ao explante demonstrando ser um fator limitante à expansão do micélio no meio de cultivo.

A ausência de eficácia em reduzir a incidência da contaminação fúngica nos explantes pode ser justificada pela própria constituição destes que dificulta a absorção da quitosana. A afirmação se baseia no fato de que, segundo Torres e Lemos (2017), qualquer movimento lateral de líquidos nos entrenós do bambu é reduzido porque a epiderme é formada por duas camadas de células em que a mais interna é altamente lignificada e a mais externa, recoberta por uma membrana cutinizada, de modo que as vias de penetração ocorrem na seção basal das hastes e, em menor escala, na região da cicatriz foliar. Neste local, a região abaixo do nó apresenta células meristemáticas responsáveis pelo crescimento intercalar, o que facilita o escoamento de líquidos, dada a menor lignificação dos tecidos. Desta forma, entende-se que o fungo presente no interior dos tecidos teve a emergência do micélio sem a influência da quitosana, uma vez que por estes não foi absorvida.

Tabela 2 *Média de explantes quanto à localização do micélio no tubo (sobre o meio de cultivo, no explante e dentro do meio de cultivo) e à posição do micélio no explante (no terço apical, no terço médio e no terço basal) e Coeficiente de Variação (C.V.) aos 14 dias após a instalação do experimento 1

Tratamentos	Parâmetro	Localização no Tubo			Posição no Explante (terço)		
		Sobre o Meio	No Explante	Dentro do Meio	Apical	Médio	Bas al
T1-0 mg L ⁻¹ quitosana	Média	12a	1b	18a	9a	13a	19a
	%	60	5	90	45	65	95
T2-50 mg L ⁻¹ quitosana	Média	14a	3b	14a	9a	15a	15a
	%	70	15	70	45	75	75
T3-100 mg L ⁻¹ quitosana	Média	12a	2b	15a	4a	12a	15a
	%	60	10	75	20	60	75
T4-150 mg L ⁻¹ quitosana	Média	13a	0b	16a	8a	14a	16a
	%	65	0	80	40	70	80
T5-300 mg L ⁻¹ quitosana	Média	2b	19a	2b	7a	16a	15a
	%	10	95	10	35	80	75
C.V. (%)		15,64	9,63	12,86	17,46	14,92	12,53

*Médias seguidas de mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade de erro pelo Teste de Tukey.

Quanto à análise da posição do micélio no explante verificou-se não haver diferença significativa em relação ao terço em que estava se desenvolvendo, o que sinaliza para o fato de que estruturas do fungo poderiam estar distribuídas internamente ao longo do explante independentemente do terço considerado no presente estudo. A afirmação se fundamenta no fato de que Torres *et al.* (2016) ao estudarem a influência da posição da gema no ramo

primário sobre a contaminação e brotação de segmentos nodais utilizados na propagação *in vitro* de *Bambusa vulgaris* Schrad. ex J.C. Wendl verificaram que em 91% dos explantes a formação do micélio ocorria a partir da região do nó independentemente da sua posição no ramo. A mesma situação pode acontecer no caso de outras espécies de bambu incluindo guadua, uma vez que Banik (2015) afirma que esta é uma região onde existem células meristemáticas abaixo do nó e a emissão de hifas das estruturas fúngicas presentes no interior dos tecidos é facilitada pela menor lignificação das paredes celulares.

No caso do experimento 2, os explantes apresentaram comprimento médio de $7,63 \pm 1,58$ cm e diâmetro médio de $0,92 \pm 0,13$ mm e a avaliação aos 14 dias possibilitou verificar resultados semelhantes àqueles encontrados no experimento 1 quanto ao fato de não haver diferença significativa entre os tratamentos referente as médias do número de explantes contaminados por fungo nem entre as médias do número de explantes com gemas necrosadas, gemas brotadas e tamanho médio do maior broto (Tabela 3).

Tais fatos levam a constatar que no experimento 2, mesmo acrescentando ao meio de cultivo concentrações de quitosana superiores àquelas do experimento 1, ainda assim não se verificou efeito sobre contaminação fúngica ou desenvolvimento de explantes.

Tabela 3 Médias* de: explantes com gemas necrosadas (Necrose), com contaminação fúngica (Fungo) e com gema brotada (Brotação); tamanho do maior broto em centímetros (T.M.B.) e Coeficiente de Variação (C.V.) aos 14 dias após a instalação do experimento 2

Tratamentos	Necrose	Fungo	Brotação	T.M.B. (cm)
T ₁ -0 mg L ⁻¹ quitosana	7 a	24 a	19 a	0,87 a
T ₂ -300 mg L ⁻¹ quitosana	5 a	20 a	17 a	1,28 a
T ₃ -400 mg L ⁻¹ quitosana	10 a	22 a	21 a	1,19 a
T ₄ -500 mg L ⁻¹ quitosana	5 a	24 a	24 a	1,08 a
C.V. (%)	16,50	10,17	12,73	26,62

*Médias seguidas de mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade de erro pelo Teste de Tukey.

A inexistência de diferença significativa entre os tratamentos que receberam e o que não recebeu a adição de quitosana ao meio quanto à ocorrência de contaminação fúngica também foi observada por Segura-Palacios *et al.* (2021) quando testou o desenvolvimento de *Aspergillus flavus* Link em meio no qual foi acrescentada quitosana (1%). No entanto, Mendes *et al.* (2017) ao testarem comparativamente quitosana e o seu derivado quaternizado hidrossolúvel *N,N,N*- trimetilquitosana *in vitro* como agentes inibidores do crescimento de *Penicillium expansum* Link nas concentrações de 0,1; 1,0; 5,0 e 10,0 gL⁻¹ adicionadas ao meio de cultura BDA sólido e aquoso, verificaram que a quitosana apresentou elevada eficácia em meio líquido, enquanto o seu derivado foi eficaz na redução do crescimento fúngico em meio de cultura sólido, ambos em baixas concentrações (0,1 e 1,0 gL⁻¹).

O presente estudo foi realizado a partir do acréscimo da quitosana em meio semissólido utilizando-se no primeiro experimento concentração máxima de 0,3 gL⁻¹ e no segundo 0,3; 0,4 e 0,5 gL⁻¹, concentrações estas que estariam acima da menor concentração encontrada por Mendes *et al.* (2017) como eficaz na redução do crescimento de *P. expansum* e mesmo assim, não foram eficazes em interferir na ocorrência da contaminação. Contudo, de acordo, ainda com os referidos autores deve-se levar em consideração que a atividade antifúngica da quitosana é fortemente influenciada por diversos fatores físico-químicos, como a massa molar polimérica, pH do meio, grau de acetilação, e composição do meio de cultura e da temperatura em que as interações ocorrem. Desta forma, a ausência de interferência das concentrações de quitosana testadas sobre a contaminação fúngica pode estar relacionada a fatores inerentes ao processo de propagação *in vitro* do bambu tais como

pH, estado físico e a constituição do meio de cultivo.

4 CONCLUSÃO

A pesquisa possibilitou concluir que nas condições em que os experimentos foram instalados e conduzidos, as diferentes concentrações quitosana adicionadas ao meio de cultivo não reduziram a contaminação fúngica nem interferiram no desenvolvimento dos explantes durante a fase de estabelecimento na propagação *in vitro* do bambu guadua por microestaca.

A partir do estudo foi possível verificar a necessidade de realizar outros novos para testar as mesmas concentrações de quitosana, no entanto, alterando-se características do meio de cultivo para que se possa verificar a influência de aspectos relacionados a este na atividade antifúngica da quitosana.

O autor agradece ao Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste- CETENE e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

LIMA, Y. C.; BONILLA, O. H.; LUCENA, E. M. P. Uso da quitosana na agricultura: uma revisão com ênfase na aplicação em sementes. **Research, Society and Development**, [s.l.], v. 11, n. 2, e39911225782, 2022.

MENDES, L. D. *et al.* Atividade inibitória da quitosana e de seu derivado quaternizado TMQ sobre o crescimento do fungo *Penicillium expansum*. In: Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, 4, 2017, São Carlos. **Anais [...]**, São Carlos: EMBRAPA Instrumentação, 2017. p. 184-187.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiology Plant**, Rockville, v. 15, p. 473-497, jul. 1962.

SEGURA-PALACIOS, M. A. *et al.* Use of Natural Products on the Control of *Aspergillus flavus* and Production of Aflatoxins In Vitro and on Tomato Fruit. **Plants**, [s.l.], v. 10, n. 12, [2553], p.1-9, 2021.

THORAT, A. S. *et al.* Establishment and sterilization method for emergent quality of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) in an efficient micropropagation system. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, [s.l.], v. 7, n. 2, p. 1122-1135. 2016.

TORRES, G. R. C.; HOULLOU, L. M.; SOUZA, R. A. Control of contaminants during introduction and establishment of *Bambusa vulgaris in vitro*. **Research in Biotechnology**, [s.l.], v. 7, p. 58-67, aug. 2016.

TORRES, G. R. C.; LEMOS, E. E. P. Physical and chemical methods for contaminant control during the *in vitro* introduction and establishment of *Bambusa vulgaris* Schrad. ex J. C. Wendl. **Científica**, Jaboticabal, v. 45, n. 4, p. 368-378, 2017.

TORRES, G. R. C. *et al.* Efeito da Posição de Segmentos Nodais sobre a Contaminação e Brotação na Micropropagação do Bambu. **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB**, Jaboticabal, v.

8, n. 1, p. 1-15, 2016.

TORRES, G. R. C. *et al.* Thermotherapy as a microbial contaminant-reducing agent in micropropagation of bamboo. **Rev. Caatinga**, Mossoró, v. 32, n. 3, p. 690 – 697, jul. – set., 2019.