



EFEITO DE CARBOMAX 500 SC® E VITAVAX®-THIRAM 200 SC SOBRE A CONTAMINAÇÃO FÚNGICA DURANTE A INTRODUÇÃO E ESTABELECIMENTO NA PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DO BAMBU GUADUA POR MICROESTACAS

GUSTAVO RUBENS DE CASTRO TORRES

RESUMO

Os métodos tradicionais de propagação assexuada do bambu são caros e de baixo rendimento e as técnicas de micropropagação são vantajosas para atender a demanda de mudas, porém apresentam como limitação a contaminação microbiana. O objetivo do trabalho foi determinar o efeito do pré-tratamento por imersão de explantes de *Guadua angustifolia* Kunth em solução de 4 mL L⁻¹ de Carbomax 500 SC® com 200 mg L⁻¹ de cloranfenicol e, em soluções de 1,5; 3 e 6 mL L⁻¹ de Vitavax®-Thiram 200 SC com 200 mg L⁻¹ de cloranfenicol, bem como pela adição destas soluções ao meio de cultivo sobre a contaminação fúngica durante a introdução e estabelecimento na propagação *in vitro* dessa espécie de bambu. A pesquisa foi realizada mediante dois experimentos conduzidos em delineamento inteiramente casualizado no Laboratório de Pesquisas Aplicadas à Biofábrica do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste - CETENE. No primeiro testou-se o efeito das citadas soluções no pré-tratamento por imersão dos explantes. No segundo, as soluções foram adicionadas ao meio de cultivo MS semissólido. Verificou-se que aos 14 dias não houve diferença na média de explantes com contaminação fúngica entre os pré-tratamentos utilizando-se Carbomax 500 SC® e Vitavax®-Thiram 200 SC em diferentes concentrações. Esta variável apresentou média significativamente menor nos tratamentos correspondentes à adição de Vitavax®-Thiram 200 SC ao meio de cultivo sem, no entanto, haver diferença significativa na média de explantes com gemas brotadas ou no tamanho médio do maior broto quando estes foram comparados ao que recebeu Carbomax 500 SC®. Novas pesquisas necessitam ser conduzidas para confirmar o efeito de Vitavax®-Thiran 200 SC na redução da contaminação fúngica nas fases de introdução e estabelecimento e também durante a multiplicação na propagação *in vitro* de *Guadua angustifolia*.

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

1 INTRODUÇÃO

O bambu é um membro da família Poaceae com usos múltiplos de elevado valor económico e ambiental (LIN; HUANG; FANG, 2012) e pode ser propagado de forma sexuada e assexuada embora, neste caso, métodos tradicionais dificultem o estabelecimento de plantios comerciais por serem caros e de baixo rendimento. No entanto, as técnicas de micropropagação representam opção vantajosa para atender a demanda de mudas em quantidade e qualidade (GENEROSO, 2014), mas apresentam como limitação a contaminação microbiana (MSOGOYA *et al.*, 2012).

Diferentes autores relatam o controle de contaminações na propagação *in vitro* de bambu por desinfestação de explantes com solução de etanol, hipoclorito de sódio e cloreto mercúrio em diferentes concentrações, isoladas ou combinadas, e intervalos de tempo (ANAND; BRAR; SOOD, 2013; JHA; DAS; KUMAR, 2013; SHARMA; SARMA, 2013;

WADAKTAR; MORE; PATIL, 2014). Entretanto, de acordo com Torres, Houllou e Souza (2016), microrganismos epifíticos e endofíticos ou parasitas são contaminantes do processo de micropropagação e produtos antimicrobianos de ação apenas superficial não garantem a obtenção de material isento de contaminação microbiana.

O controle das contaminações na propagação *in vitro* do bambu também é citado como bem-sucedido com pré-tratamento por imersão de explantes em solução de fungicidas à base de benomil (RIBEIRO *et al.*; 2016), CARBENDAZIM (Bavistin®) e antibióticos como estreptomicina e rifampicina (ALI *et al.*, 2009) ou estreptomicina (ARYA; ARYA, 2009), além de Mancozebe® e gentamicina (MUDOI; SAIKIA; BORTHARKHUR, 2014) com desinfestação subsequente em etanol, hipoclorito de sódio, hipoclorito de cálcio ou cloreto de mercúrio e; desinfestação com estes e posterior deposição em meio de cultivo com fungicida à base de benomil (Benlate®) conforme Ramanayake, Meemaduma e Werawardene (2006), e Torres, Houllou e Souza (2016) que descreveram controle de contaminação pelo pré-tratamento por imersão de explantes de *Bambusa vulgaris* Schrad. ex J.C. Wendl em 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 por 30 min, como também quando explantes foram depositados em meio de cultivo líquido, por sete dias, nestas concentrações destes fungicida e antibiótico.

Embora o tratamento químico seja o método mais difundido de controle das doenças de plantas, apresenta como uma das desvantagens a resistência adquirida pelos microrganismos aos compostos utilizados (MENDES *et al.*, 2001) o que torna necessária a realização de pesquisas sobre a eficácia de outros princípios ativos também para na propagação *in vitro*.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo determinar o efeito do pré-tratamento por imersão de explantes de *Guadua angustifolia* Kunth em solução de 4 mL L⁻¹ de Carbomax 500 SC® (suspensão concentrada de CARBENDAZIM 500 g L⁻¹, NUFARM INDÚSTRIA QUÍMICA E FARMACÊUTICA S/A) e em soluções de 1,5; 3 e 6 mL L⁻¹ de Vitavax®-Thiram 200 SC (suspensão concentrada de CARBOXINA 200 g L⁻¹ e TIRAM 200 mg L⁻¹, Chentura Indústria Química do Brasil Ltda) e da adição destas soluções ao meio sobre a contaminação fúngica na introdução e estabelecimento *in vitro* desta espécie de bambu.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Pesquisas Aplicadas à Biofábrica – LAPAB do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste CETENE com a condução de dois experimentos como parte integrante das atividades realizadas pelo autor, bolsista modalidade 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 nº de processo APQ-0039-5.01/17.

Experimento 1 - Efeito do pré-tratamento por imersão de explantes em solução de Carbomax 500 SC® e cloranfenicol e de Vitavax®-Thiram 200 SC e cloranfenicol sobre a contaminação fúngica na propagação *in vitro* de *Guadua angustifolia*

A coleta de microestacas foi realizada utilizando-se os brotos de touceiras de *Guadua angustifolia* obtidas por propagação *in vitro* e mantidas no telado do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste. Estes brotos foram: selecionados com base na coloração das folhas que cobriam os nós (bege com tonalidade palha) e dos entrenós (marrom-avermelhados); colhidos cortando-se com tesoura a metade do primeiro entrenó basal surgido a partir do substrato de forma a preservar o primeiro nó; depositados em becker com água de torneira e levados ao laboratório onde tiveram o número de gemas estabelecido em três contando-se as

gemas no sentido da base para o ápice correspondentes àquelas cujas bainhas que as recobriam eram facilmente removidas com os dedos.

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 e separadas em conjuntos de 12 unidades os quais foram individualmente imersos e mantidos sob agitação por 1 h em 100 mL de soluções com 200 mg L⁻¹ de cloranfenicol e diferentes concentrações de fungicidas as quais se constituíram nos seguintes tratamentos: solução de 4 mL L⁻¹ de Carbomax 500 SC®, tratamento 1 e padrão de pré-tratamento estabelecido por Torres, Houllou e Souza (2016) e soluções de 1,5; 3 e 6 mL L⁻¹ de Vitavax®-Thiram 200 SC correspondentes aos tratamentos 2, 3 e 4 respectivamente. Concluído o tempo, procedeu-se enxágue dos explantes em água destilada não estéril por 1 min e foram enviados à câmara de fluxo laminar onde realizou-se a imersão em 100 mL de solução de hipoclorito de sódio a 0,6% durante 10 minutos sob agitação seguida de três enxágues consecutivos em água destilada estéril por 1 minuto. Ao término, cortou-se de 1 a 2 mm das extremidades dos explantes visando remover o tecido ainda sob a ação do hipoclorito de sódio.

Os 12 explantes de cada tratamento, foram depositados isoladamente em tubos de ensaio com 20 mL de meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) semissólido (8,5 g de ágar L⁻¹) com as gemas voltadas para cima até que a cicatriz foliar da gema que ocupava a posição mediana estivesse em contato com o meio, o qual continha a concentração total de sais, sem sacarose, 50 mg L⁻¹ de ácido cítrico; 50 mg L⁻¹ de ácido ascórbico e 1 mg L⁻¹ de BAP (N⁶ – benzylaminopurine). Os tubos foram tampados e 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 em delineamento inteiramente casualizado e a avaliação das variáveis necrose, contaminação e brotação realizada aos 14 dias após instalado. Os resultados obtidos 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 sendo apresentados os valores originais.

Após a avaliação das variáveis, as colônias fúngicas com maior frequência de crescimento em explantes por repetição foram selecionadas com base em características macroscópicas (aspecto e cor). Os isolamentos foram realizados por fragmentação de micélio, transferindo-os para placas de Petri com meio batata-dextrose-ágar (BDA), e mantidas à temperatura ambiente por 14 dias, durante os quais os fungos que cresciam eram também purificados pela fragmentação do micélio e cultivo em BDA. Os isolados que permaneceram ativos foram identificados ao nível genérico, utilizando a taxonomia clássica (ELLIS, 1971; MANAMGODA *et al.*, 2014; WOUTENBERG *et al.*, 2013; WOUTENBERG *et al.*, 2015), com base nas características macroscópicas das colônias e microscópicas do estabelecimento de microculturas de espécimes.

Experimento 2 – Efeito da adição de Carbomax 500 SC® e cloranfenicol e de Vitavax®-Thiram 200 SC e cloranfenicol em meio de cultivo sobre a contaminação fúngica na propagação *in vitro* de *Guadua angustifolia*.

A origem das microestacas e procedimentos para seleção, coleta, condução destas ao laboratório e enxágue em solução de Tween 20 foram os mesmos descritos na metodologia do experimento 1. Em seguida foi acrescentada 100 mL da solução de 4 mL L⁻¹ de Carbomax 500 SC® e 200 mg L⁻¹ de cloranfenicol mantendo-se sob agitação por 1 h e seguido de enxágue em água destilada não estéril por 1 min. Os explantes foram enviados à câmara de fluxo laminar e submetidos aos mesmos procedimentos de desinfestação realizados no experimento 1. Ao término foram separados em grupos de 12 unidades sendo estas constituintes das repetições de cada tratamento que corresponderam a 12 explantes depositados isoladamente em tubos de

ensaio contendo 20 mL de meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) semissólido (8,5 g de ágar L⁻¹) com as gemas voltadas para cima até que a cicatriz foliar da gema que ocupava a posição mediana estivesse em contato com o meio, cuja constituição era a mesma daquela apresentada no experimento 1 com a diferença entre os tratamentos representada pelo acréscimo de fungicidas e antibiótico cloranfenicol nas concentrações a saber: Tratamento 1 (tratamento padrão) - meio acrescido de 4 mL L⁻¹ de Carbomax 500 SC[®] e 200 mg L⁻¹ de cloranfenicol; Tratamentos 2, 3 e 4 – meios acrescidos de 200 mg L⁻¹ de cloranfenicol e Vitavax[®] - Thiran 200 SC nas concentrações de 1,5; 3 e 6 mL L⁻¹, respectivamente.

Os tubos foram tampados e transferidos para sala de cultivo sendo incubados nas mesmas condições descritas no experimento 1. Os procedimentos estatísticos adotados com os resultados da avaliação das variáveis: necrose, contaminação, brotação e tamanho do maior broto aos 21 dias após a instalação foram os mesmos adotados no experimento 1.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no experimento 1 (Tabela 1) possibilitaram constatar não haver diferença significativa na contaminação fúngica encontrada nos tratamentos, o que comprova não existir diferença na eficácia de controle desta pela imersão por 1h dos explantes nas soluções testadas. Também não houve diferença significativa no número médio de explantes com necrose nas gemas e com gemas brotadas (Tabela 1). Vale ressaltar que a média de explantes com contaminação fúngica no tratamento Carbomax 500SC[®] (4 mL L⁻¹) e cloranfenicol (200 mg L⁻¹) igual a 10 (Tabela 1), correspondente a 83%, ficou próxima àquela obtida por Torres, Houllou e Souza (2016) (84%) quando utilizaram a mesma solução de fungicida e antibiótico no pré-tratamento de explantes de *B. vulgaris*.

Tabela 1 Médias* de explantes com: gemas necrosadas (Necrose), contaminação fúngica (Fungo), gema brotada (Brotação) e Coeficiente de Variação (C.V.) aos 14 dias após instalação do experimento 1

Tratamentos	Necrose	Fungo	Brotação
1 Carbomax 500SC [®] (4 mL L ⁻¹)	12 a	10 a	7 a
2 Vitavax [®] -Thiran 200 SC (1,5 mL L ⁻¹)	11 a	10 a	8 a
3 - Vitavax [®] -Thiran 200 SC (3,0 mL L ⁻¹)	10 a	11 a	10 a
4 - Vitavax [®] - Thiran 200 SC (6,0 mL L ⁻¹)	12 a	12 a	11 a
C.V. (%)	7,23	9,39	13,62

*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.

Dentre 60 isolamentos realizados, 19 isolados fúngicos se mantiveram ativos tornando possível a identificação em nível genérico na ordem decrescente de prevalência: 12 do gênero *Alternaria* Nees quatro do gênero *Bipolaris* Shoemaker, dois do gênero *Fusarium* Link e um do gênero *Curvularia* Boedijn (Tabela 2).

Tabela 2 Número de isolados fúngicos e respectivos percentuais por gênero identificados como contaminantes de explantes de *Guadua angustifolia* 14 dias após instalação do experimento 1

Gênero	Número de Isolados	Percentual (%)
<i>Alternaria</i> Nees	12	63,2
<i>Bipolaris</i> Shoemaker	4	21,0
<i>Curvularia</i> Boedijn	1	5,3
<i>Fusarium</i> Link	2	10,5
Total	19	100

Houve semelhanças entre os gêneros fúngicos identificados no presente trabalho com aqueles apresentados no trabalho de Torres *et al.* (2019) a partir do cultivo *in vitro* de *B. vulgaris*. A diferença entre ambos consistiu apenas no fato de que nesta pesquisa houve presença do gênero *Fusarium* e ausência de *Cladosporium* Link e o contrário ocorreu no trabalho dos citados autores. A similaridade comprova a afirmação de Hyde, Zhou e Dalisay (2002) de que é improvável existir especificidade hospedeira entre fungos bambusícolos

De acordo com Chentura (2016?), o Vitavax®-Thiram 200 SC é recomendado para controle de determinadas espécies pertencentes aos gêneros *Alternaria*, *Bipolaris* e *Curvularia* e, também das espécies do gênero *Fusarium* (*F. semitectum* Berk. & Rav. e *F. moniliforme* Sheldon) logo, a escolha deste fungicida foi correta para o controle dos gêneros fúngicos contaminantes.

Fundamentando-se nos resultados obtidos aos 21 dias após a instalação do experimento 2 (Tabela 3) verificou-se que o número médio de explantes com gemas necrosas foi significativamente menor nos tratamentos cujos meios receberam adição de Vitavax®-Thiran 200 SC nas concentrações de 3,0 e 6,0 mL L⁻¹ e 200 mg L⁻¹ de cloranfenicol e estes por sua vez não diferiram do tratamento com o mesmo fungicida na concentração de 1,5 mL L⁻¹ (Tabela 3). Quanto a este tratamento, ressalta-se que apresentou o número médio de explantes com contaminação fúngica significativamente menor em relação ao tratamento com adição Carbomax 500SC® (4,0 mL L⁻¹) e cloranfenicol (200 mg L⁻¹). Não houve diferença significativa entre os tratamentos no número médio de explantes com gemas brotadas ou no tamanho médio do maior broto (Tabela 3).

Tabela 3 Médias* de: explantes com gemas necrosadas (Necrose), com contaminação fúngica (Fungo) e com gema brotada (Brotção), tamanho do maior broto em centímetros (T.M.B.) e Coeficiente de Variação (C.V.) aos 21 dias após a instalação do experimento 2

Tratamentos	Necrose	Fungo	Brotção	T.M.B. (cm)
1 Carbomax 500SC® (4,0 mL L ⁻¹)	11 a	12 a	10 a	0,88 a
2 Vitavax®-Thiran 200 SC (1,5 mL L ⁻¹)	6 ab	6 b	10 a	0,54 a
3 Vitavax®-Thiran 200 SC (3,0 mL L ⁻¹)	2 b	10 ab	9 a	0,43 a
4 Vitavax®-Thiran 200 SC (6,0 mL L ⁻¹)	4 b	10 ab	5 a	0,12 a
C.V. (%)	14,97	11,83	14,08	16,44

*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

Torres e Lemos (2017) ao testarem métodos químicos e físicos para controle de contaminantes durante a introdução e estabelecimento de *B. vulgaris* verificaram que em meio de cultivo MS líquido com a adição de 4 mL L⁻¹ de Derosal 500 SC® e 200 mg L⁻¹ de cloranfenicol, a brotação e a contaminação fúngica ocorreram em percentuais de 84% e 24%, respectivamente. No caso da presente pesquisa, o número médio de explantes brotados no tratamento correspondentes a Vitavax®-Thiran 200 SC (1,5 mL L⁻¹) + cloranfenicol (200 mg L⁻¹) foi próximo em termos percentuais (83,3%) ao encontrado pelos referidos autores, embora o número médio de explantes com contaminação fúngica (6) tenha correspondido a um percentual maior (50%).

4 CONCLUSÃO

A partir dos resultados constatou-se que o pré-tratamento por imersão dos explantes de *Guadua angustifolia* em soluções contendo as diferentes concentrações de Vitavax®-Thiran 200 SC (1,5; 3,0 e 6,0 mL L⁻¹) e cloranfenicol (200 mg L⁻¹) testadas não foi eficaz em reduzir a

contaminação fúngica quando comparado ao pré-tratamento por imersão dos explantes em solução de Carbomax 500 SC[®] (4,0 mL L⁻¹) e cloranfenicol (200 mg L⁻¹).

A adição de diferentes concentrações de Vitavax[®]-Thiran 200 SC (1,5; 3,0 e 6,0 mL L⁻¹) e cloranfenicol (200 mg L⁻¹) ao meio de cultivo MS semissólido possibilitou a obtenção de resultados promissores, uma vez constatado que nestes casos o número médio de explantes com necrose e contaminação fúngica foi significativamente menor quando comparado àqueles encontrados quando o meio foi acrescido de Carbomax 500SC[®] (4,0 mL L⁻¹) e cloranfenicol (200 mg L⁻¹) sem no entanto, diferirem deste em relação ao número médio de explantes com gemas brotadas ou tamanho médio do maior broto.

Apesar dos resultados serem promissores, novas pesquisas necessitam ser conduzidas para confirmação da eficácia de Vitavax[®]-Thiran 200 SC não apenas na introdução e estabelecimento, mas também na fase multiplicação do processo de propagação *in vitro* de *G. angustifolia*.

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

ALI, A. H. *et al.* *In vitro* Organogenesis and Simultaneous Formations of Shoots and Roots from Callus in *Dendrocalamus asper*. **VIII World Bamboo Congress Proceedings**, Bangkok, v. 6, p. 31-40, jan. 2009

ANAND, M.; BRAR, J.; SOOD, A. *In Vitro* Propagation of Edible Bambu *Bambusa bambos* and Assessment of Clonal Fidelity through Molecular Markers. **Journal of Medical and Bioengineering**. [s.l.], v. 2, n. 4, p. 257-261, dec. 2013.

ARYA I. D.; ARYA S. Propagation of Bamboos through Culture Technology and Field Plantation. **Horticulture**, [s.l.], v.6, p.131-143, 2009.

CHENTURA. **Vitavax[®]-Thiram 200 SC**: bula. Chentura Indústria Química do Brasil Ltda: São Paulo. [2016?]. 13 p.

ELLIS, M. B. **Dematiaceous Hyphomycetes**. UK: Commonwealth Mycological Institute. 608 p. 1971

GENEROSO, A. L. **Caracterização Morfológica e Cultivo *in vitro* de Espécies de Bambu. 2014.** 57 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Univerisdade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2014.

JHA, A.; DAS, S.; KUMAR, B. Micropropagation of *Dendrocalamus hamiltonii* through nodal explants. **Global Journal of Bio-Science and Biotechnolgy**, [s.l.], v. 2, n. 4, p. 580-582. 2013.

LIN, X.; HUANG, L.; FANG, W. Bamboo regeneration via embryogenesis and organogenesis. *In: Embryogenesis*. Sato, Ken-Ichi (Ed.). INTECH: [Rijeka], cap. 16. p. 359-372. 2012.

MANAMGODA, D. S. The genus *Bipolaris*. **Studies in Mycology**. [s.l.], v. 79, p. 221-288, sep. 2014.

MENDES M. A. S. *et al.* Erradicação de *Fusarium oxysporum* em sementes de alfafa utilizando termo e quimio-terapia. **Fitopatologia Brasileira**, [s.l.], v. 26, n. 2, p.148-152, jun. 2001.

MSOGOYA, T. *et al.* Identification and Management of Microbial Contaminants of Banana *in vitro* Cultures. **Journal of Applied Biosciences**. [s.l.], v. 55, p. 3987-3994. 2012.

MUDOI, K D.; SAIKIA, S. P.; BORTHARKHUR, M. Effect of nodal positions, seasonal variations, shoot clump and growth regulators on micropropagation of commercially important bamboo, *Bambusa nutans* Wall. Ex. Muro. **African Journal of Biotechnology**, [s.l.], v. 19, n. 19, p. 1961-1972, 7 may 2014.

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

RAMANAYAKE, S. M. S. D.; MEEMADUMA, V. N.; WERAWARDENE, T. E. *In vitro* shoot proliferation and enhancement of rooting for the large scale propagation of yellow bamboo (*Bambusa vulgaris* 'Striata'). **Sci. Hort.** [s.l.], v. 110, n. 1, p. 109-113, 11 sep. 2006.

RIBEIRO, A. S. Cultivo *in vitro* de bambu em diferentes sistemas de propagação. **Nativa**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 15-18, jan./fev. 2016.

SHARMA, P.; SARMA, K. P. *In Vitro* Propagation of *Bambusa tulda*: An Important Plant for Better Environment. **Journal of Enviromental Research and Development**, [s.l.], v. 7, n. 3, p. 1216-1223, jan./mar. 2013.

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

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.

WADAKTAR, C. M.; MORE, N. V.; PATIL, V. V. Initiation of suspension culture and somatic embryogenesis to plant regeneration in multipurpose bamboo (*Dendrocalamus tulda*). **Indian Journal of Applied Research**, [s.l.], v. 4, n. 1, p.149-151, 2014.

WOUDENBERG, J. H. C. *et al.* *Alternaria* redefined. **Studies in Micology**, [s.l.], v. 75, p. 171-212, may 2013.

WOUDENBERG, J. H. C. *et al.* *Alternaria* section *Alternaria*: Species, formae speciales or pathotypes? **Studies in Mycology**. [s.l.], v. 82, p. 1-21, sep. 2015.