

MICROPROPAGAÇÃO DE BANANEIRA CV. PRATA CATARINA EM MEIOS DE CULTIVO ALTERNATIVOS

Halline Maria Garantizado dos Santos, Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho, Fernanda Schneider.

1. RESUMO

O uso de agentes gelificantes alternativos, que possuem características físicas específicas e que permitam o desenvolvimento das mudas, pode favorecer a tecnologia e a agricultura do futuro. Este trabalho buscou avaliar o desempenho de agentes gelificantes alternativos, adicionados ao meio de cultivo, na fase de alongamento e enraizamento de mudas micropropagadas de bananeira (*Musa* sp.) cv. Prata Catarina. O experimento foi realizado em duas fases: Implantação e avaliação das mudas nos meios de cultivo alternativos e a submissão dos meios às análises reológicas. Foram usados três produtos alternativos comerciais que são: sagu (S) nas concentrações 100, 120 e 140 g/L, fécula de mandioca (FM) com 120 e 140 g/L, amido de milho (AM) com 80, 100, 120 e 140 g/L, e tratamentos de controle, onde foram utilizados produtos convencionais, Ágargel (AG) a 6,0 e 8,0 g/L e Gelrite (GR) a 1,8 g/L. Foram avaliados: altura de muda (AMUD), diâmetro do pseudocaule (DPCA), número de folhas (NFMU), comprimento da maior raiz (CMRA), número de raízes (NRMU), massa fresca da raiz (MFPR) e parte aérea (MFPA), massa seca das raízes (MSPR) e da parte aérea (MSPA). Os tratamentos compostos por AM 140 e FM 120 foram os que mais se aproximaram dos tratamentos padrão, pois se igualaram estatisticamente na maioria das variáveis. Na análise reológica, os tratamentos FM 120 e 140, foram os que obtiveram os menores valores de cisalhamento, determinando sua fragilidade e fluidez. A partir das avaliações das mudas de bananeiras e das análises reológicas conclui-se que as substâncias FM e AM podem ser utilizadas como substitutas para os gelificantes convencionais.

Palavra-chaves: Amido de milho. *Musa spp.* Fécula de mandioca. Reologia. Agentes gelificantes.

BANANEER MICROPROPAGATION CV. PRATA CATARINA' IN THE MEDIA OF ALTERNATIVE CROPS

2. ABSTRACT

The use of alternative gelling agents, which have specific physical characteristics and allow the development of seedlings, may favor the technology and agriculture of the future. The objective of this work was to evaluate the performance of alternative gelling agents, added to the culture medium, in the elongation and rooting phase of micropropagated (*Musa sp.*) Cv. Silver Catherine. The experiment was carried out in two phases: Implantation and evaluation of the plantlets in the alternative culture media and the submission of the media to the rheological analyzes. Three commercial alternative products were used: sago (S) at concentrations 100, 120 and 140 g / L, manioc starch (FM) with 120 and 140 g / L, corn starch (AM) with 80, 100, 120 and 140 g / L, and control treatments, where conventional products were used, Aggargel (AG) at 6.0 and 8.0 g / L and Gelrite (GR) at 1.8 g / L. MUD height, number of leaves (NFMU), length of the largest root (CMRA), number of roots (NRMU), fresh root mass (RBMW) and aerial part were evaluated (MUD), pseudocaul diameter MFPA), root dry mass (MSPR) and shoot (MSPA). The treatments composed by AM 140 and FM 120 were the ones that most approached the standard treatments, since they were statistically equal in most variables. In the rheological analysis, the treatments FM 120 and 140 were the ones that obtained the lowest values of shear, determining its fragility and fluidity. From the evaluations of banana tree plantlets and rheological analyzes it is concluded that FM and AM can be used as substitutes for conventional gellants.

Keywords: Maize starch. *Musa spp.* Cassava starch. Rheology. Gelling agents.

3. INTRODUÇÃO

Dentro do cenário da agricultura mundial, a fruticultura tem se destacado, por meio do aumento significativo da produtividade e da modernização das tecnologias, gerando mais empregos e renda para o setor. A banana (*Musa sp. Cvs.*) é uma das culturas que tem se realçado neste meio. Ela também é uma das frutas mais consumidas no Brasil, por ser fonte de vitaminas, minerais e açúcares gerando benefícios para a saúde de quem a consome, conforme afirma Oliveira, Bruckner & Silva (2018).

Segundo EMBRAPA (2018), o Brasil é quarto país que mais produz banana no mundo, responsável por 6,0% da produção mundial no ano de 2016. No ano de 2017 produtividade nacional chegou a 14 t/ha sendo o nordeste responsável por 33,74% de toda produção. (EMBRAPA, 2018)

O uso de mudas micropropagadas foi uma alternativa encontrada pelos produtores, uma vez que aquelas obtidas a partir de rizomas podem apresentar fitopatógenos e requerem muitos cuidados como buscar mudas de fontes responsáveis, tratamentos culturais elevados, as mudas devem estar na mesma idade fenológica etc. isso tudo para garantir a sanidade e segurança na implantação da área.

“A micropropagação é a propagação vegetativa da planta sob condições assépticas, em ambiente controlado e com uso de meio de cultura adequado. Pode ser usado para produzir plantas livres de doenças, excluindo os organismos causadores de doenças durante o ciclo de propagação. Portanto, esta técnica é altamente adequada para multiplicação rápida de genótipos”. (RAKSHI et al. 2017.)

De acordo com GOVINDARAJU et al., (2012) as mudas micropropagadas de bananeira apresentam várias vantagens em relação às obtidas pelos métodos convencionais de propagação vegetativa, tais como: altas taxas de multiplicação, uniformidade fisiológica, manutenção da identidade genética e obtenção de plantas livres de doenças e pragas.

Os meios nutritivos podem ser utilizados na forma líquida e semissólida. Nos meios semissólidos, a substância com ação gelificante frequentemente utilizado é o ágar, um polissacarídeo extraído de algas marinhas que dá consistência ao meio e serve de suporte às plantas. (QUISEN & ANGELO, 2008).

Entretanto, o ágar passa a ser o componente mais caro do meio de cultura. Com relação ao ágar e à redução de custo da produção de mudas de micropropagadas de bananeira, alguns estudos têm sido realizados com agentes substitutos como os citados por Prabhuling, Mastiholi & Kerutagi (2014), Saraswathi et al, (2016) que utilizaram em seus experimentos, amidos de várias fontes, como batata, arroz, trigo, mandioca e milho, isoladamente ou em combinação, com graus diferentes de sucesso.

Cada agente gelificante disponível no mercado possui uma propriedade específica. Sendo assim, a substituição dos agentes gelificantes usados atualmente por outras substâncias, levanta questões sobre a resistência desses fluídos formados e suas interações com os explantes cultivados, sendo recomendado a realização de análises reológicas nesses meios. Em linhas gerais a reologia é a ciência que estuda a deformação e o escoamento da matéria. Meneguini (2009), destaca que o comportamento reológico dos polímeros pode ser fortemente influenciado pela massa molar, ramificações da cadeia polimérica, polaridade, copolimerização, mistura de polímeros, partículas sólidas suspensas, interações polímero-solvente e rigidez da cadeia.

Os polissacarídeos por exemplo, o grau do caráter sólido e líquido pode ser quantificado, através do módulo de armazenamento (G') e módulo de perda (G''), ambos expressos em Pascal

(Pa) e que são componentes do módulo de cisalhamento complexo (G^*), que representa a resistência total a deformação (MENEQUIN, 2009.).

O uso de agentes gelificantes alternativos, que possuem características físicas específicas e que permitam o desenvolvimento das plantas, pode favorecer a tecnologia e a agricultura do futuro. Em vista disso, este trabalho tem como objetivo avaliar o desempenho de agentes gelificantes alternativos, adicionados ao meio de cultivo, na fase de alongamento e enraizamento de mudas micropropagadas de bananeira (*Musa sp.*) cv Prata Catarina.

4. METODOLOGIA

O presente trabalho trata-se de um experimento com micropropagação de bananeiras da cultivar Prata Catarina, na fase de alongamento e enraizamento, utilizando agentes gelificantes alternativos. O mesmo foi executado em duas fases, a primeira trata-se da inoculação do material vegetal nos meios de cultivo preparados, onde se avaliou as mudas de acordo com as variáveis de crescimento e desenvolvimento em cada tratamento. A segunda fase refere-se ao desempenho do agente gelificante alternativo, adicionado ao meio nutritivo, onde foram avaliados aspectos relacionados à reologia.

4.1 Local do experimento e obtenção das mudas

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, no Centro Nacional de Pesquisa de Agroindústria Tropical (CNPAT) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), entre agosto e novembro de 2018.

Os explantes de bananeira cv. Prata Catarina, oriundos do 5^o subcultivo sucessivo, foram cedidos pela biofábrica de mudas BIOCLONE, localizada na cidade de Eusébio - Ceará. Esses explantes foram obtidos a partir do ápice caulinar do rizoma, e durante os cinco subcultivos sucessivos foram mantidos em meio de cultivo MS (Murashige & Skoog, 1962) adicionado de BAP (6-benzilaminopurina).

4.2 Preparo dos meios de cultura

O meio utilizado foi o MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 30g/L de sacarose, 0,1 mg/L de ANA (ácido naftalenoacético) e 2,0 g/L de carvão ativado ajustando-se o pH em $5,7 \pm 0,1$. Os tratamentos utilizados neste experimento foram compostos por produtos alternativos aos usados comumente para a gelificação do meio, em diferentes concentrações.

Como meios de controle foram usadas as substâncias usualmente utilizadas no preparo de meio de cultivo Gelrite® a 1,8 g/L e Ágargel® a 6,0 e 8,0 g/L. Como produtos alternativos foram utilizadas 4 substâncias comerciais: sagu, amido de milho, fécula de batata e fécula de mandioca, inicialmente nas concentrações 80, 100, 120 e 140 g/L para todos. Porém o produto fécula de batata, nas concentrações testadas, não foi adequado para solidificar o meio, pois não apresentou consistência suficiente para fornecer sustentação para as mudas; bem como a concentração de 80 g/L de sagu e de fécula de mandioca e 100 g/L de fécula de mandioca, sendo então estes tratamentos não utilizados no trabalho. Os tratamentos alternativos utilizados foram: sagu nas concentrações 100, 120, 140 g/L, amido de milho nas concentrações 80, 100, 120 e 140 g/L, fécula de mandioca nas concentrações 120 e 140 g/L, conforme metodologia aplicada por Prabhuling, Mastiholi & Kerutagi (2014).

Após o preparo dos meios de cultivo e ajuste do pH, foram adicionados os produtos gelificantes em cada concentração indicada anteriormente. Com ressalva apenas para o sagu, nas concentrações testadas que permaneceram em imersão durante 30 minutos, conforme recomendação para o preparo do alimento, especificado na embalagem, antes da preparação do meio de cultivo.

Após a adição dos produtos, os meios de cultivo foram colocados em aparelho de micro-ondas e submetidos a dois tempos de 3 minutos para aquecimento e uniformização do meio, de modo que os agentes gelificantes fossem totalmente dissolvidos e o carvão ficasse distribuído uniformemente. Após o aquecimento os meios de cultivo foram distribuídos em frascos de vidro de 220 mL com 30 mL de meio em cada, e tampados com tampas autoclaváveis de polipropileno, e submetidos a autoclave por 15 minutos à 121 °C.

4.3 Inoculação dos explantes

Os frascos, contendo os meios de cultivo autoclavados, foram levados para a sala de transferência, onde ocorreu a inoculação dos explantes, sob condições de capela de fluxo laminar. Os explantes, enviados pela Bioclone, foram retirados do meio de cultivo, separados individualmente, cada explante teve suas raízes eliminadas e toda a parte oxidada retirada, e selecionados de acordo com o tamanho (2 a 4 cm de altura) e número de folhas (1 a 3 folhas), de forma a uniformizar o material a ser utilizado, no experimento. Após a seleção, os explantes foram inoculados nos respectivos meios de cultivo (tratamentos) para a fase de alongamento e enraizamento. Em cada frasco, foram colocados cinco explantes.

4.4 Avaliação das mudas.

As mudas inoculadas foram colocadas em sala de crescimento com temperatura de 25 °C, iluminação de 16 h e irradiação de $30\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, durante 30 dias, conforme metodologia apresentada por Carvalho, Rodrigues e Santos (2012). Após esse período as mudas foram avaliadas de acordo com as seguintes variáveis: altura (AMUD), diâmetro do pseudocaule na região do colo (DPCA), número de folhas (NFMU), comprimento da maior raiz (CMRA), número de raízes principais (NRMU), massas frescas da raiz (MFPR) e parte aérea (MFPA), massas secas das raízes (MSPR) e da parte aérea (MSPA).

A altura de muda é considerada como a distância entre o colo (local de onde desenvolvem-se as primeiras raízes), até a inserção da folha mais nova, e o diâmetro do pseudocaule a medida de circunferência na região do colo da muda. Essas medidas foram feitas utilizando um paquímetro digital.

Na avaliação do número de folhas considerou-se a quantidade de folhas abertas e que apresentavam mais de 50% do limbo de coloração verde. De acordo com Santos (2014), tal parâmetro é fundamental para a próxima fase da micropropagação, a aclimatização, fase em que a muda precisara começar a se desenvolver, na ausência do meio de cultivo, ou seja, realizar a fotossíntese, sob condições *ex vitro*, sendo a quantidade de folhas imprescindível, de forma que quanto mais folhas, maior área fotossintética.

Comprimento da maior raiz, é a distância da inserção da raiz no rizoma até a extremidade da mesma (coifa), é importante para estimar quanto de solo aquela raiz é capaz de explorar, no caso meio nutritivo, relacionado à capacidade de absorção, essa aferição foi feita com o auxílio de uma régua. Número de raízes principais se refere à quantidade de raízes de maior comprimento e mais espessas que a muda possui, de forma que elas irão cooperar na absorção dos nutrientes e na competição durante o alongamento.

Na variável matéria fresca, as mudas foram separadas em parte aérea e raiz, pesadas separadamente e colocadas em sacos de papel, para assim serem submetidas a temperaturas de 65 °C em estufa durante 72h, de modo a retirar toda a água presente na muda, podendo assim mensurar a matéria seca presente nessas mudas. Após foram aferidas as suas massas separadamente em balança analítica.

4.5 Avaliação reológica do meio de cultivo

A avaliação dos meios de cultivo foi feita a partir das análises reológicas. O material foi submetido a análises no Laboratório de Biomassa do CNPAT, para avaliação dos aspectos

reológicos que consistem em investigar a capacidade de um fluido escoar ou resistir à alguma pressão, ou seja, essa análise refere-se em medir a deformação provocada por uma tensão ou medi-la com a finalidade de se produzir uma deformação em um período de tempo determinado, conforme foi determinado por Gallo (2013).

Para as análises reológicas, as amostras de 50 mL, dos meios contendo os ágar comerciais e demais produtos alternativos foram colocados em béqueres de vidro, foram autoclavados e submetidos às análises. Inicialmente realizou-se uma varredura de tensão na frequência de 1Hz para verificação da faixa viscoelástica linear e seleção da tensão que seria empregada nas análises de varredura de frequência. Nesta região os módulos elásticos (G') e viscoso (G'') permanecem constantes com a variação da deformação, indicando que não ocorre perturbação significativa na estrutura do polímero. As análises dinâmicas por varredura de frequência foram feitas a partir da determinação da região viscoelástica dos géis, as análises foram realizadas em triplicata numa amplitude de 0,1 a 100 Hz (25°C). Metodologia semelhante foi utilizado por Meneguín (2009), em seu trabalho sobre géis de ágar e galactomanana.

Para realização de uma análise reológica é necessário conhecer a região viscoelástica linear das amostras, ou seja, a região onde o módulo de cisalhamento elástico (G') e o módulo de cisalhamento viscoso (G'') são independentes da tensão ou deformação aplicadas ao sistema. Nessas condições a tensão não altera a estrutura física do sistema em estudo.

As varreduras de tensão foram realizadas no intervalo de 1 a 100 Pa com frequência fixa de 1 Hz. A partir da determinação da região viscoelástica linear, os valores dos módulos de cisalhamento elástico (G') e viscoso (G'') foram avaliados para o intervalo de frequência de 0,1 a 10Hz, com a finalidade de determinar os valores de tensão (G' e G'') para cada tratamento.

4.6 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi o de blocos inteiramente casualizados. Os tratamentos (Tabela 1) foram compostos por três produtos comerciais que são: sagu (S), fécula de mandioca (FM), amido de milho (AM), onde S tem as seguintes concentrações 100, 120 e 140 g/L, FM tem concentrações de 120 e 140 g/L e AM nas concentrações 80, 100, 120 e 140 g/L, resultando em 9 tratamentos e tratamentos de controle, onde foram preparados com produtos comumente utilizados para o preparo do meio nutritivo, Ágargel (AG) a 6,0 e 8,0 g/L e Gelrite (GR) a 1,8 g/L. Resultando em 12 tratamentos, em 6 repetições, sendo cada uma composta por um frasco 5 explantes.

Tabela 1- Nomenclatura utilizada para identificar os tratamentos utilizados. T= Tratamento.

T 1: Gelrite 1,8 g/L - GR 1,8	T 2: Ágargel 6,0 g/L - AG 6	T 3: Ágargel 8,0 g/L - AG 8
T 4: Sagu 100 g/L - S 100	T 5: Sagu 120 g/L - S 120	T 6: Sagu 140 g/L - S 140
T 7: Fécula de mandioca - 120 g/L - FM 120	T 8: Fécula de mandioca - 140 g/L - FM 140	T 9: Amido de milho 80g/L - AM 80
T10: Amido de milho 100g/L - AM 100	T 11: Amido de milho 100g/L - AM 120	T 12: Amido de milho 140g/L - AM 140

4.7. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (Anova). Subsequentemente, quando significativos pelo teste F, utilizou-se o teste de Tukey ao nível de 5%, para separação das médias.

5. RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1. Avaliação das mudas

Os dados foram submetidos a ANOVA a nível de significância de 5%, todas as variáveis obtiveram o valor de $p < 0,0001$, significando que dentre os tratamentos, para cada variável, pelo menos um obteve média diferente dos demais, como foi determinado a seguir pelo teste de Tukey (Tabelas 2 e 3).

Os tratamentos GR 1,8: Gelrite 1,8 g/L; AG 6: Ágargel 6,0 g/L; AG 8: Ágargel 8,0 g/L são os tratamentos que utilizaram as substâncias comumente utilizadas para gelificação do meio, desta forma eles são o padrão para a comparação das demais agentes gelificantes alternativos.

A Tabela 2 apresenta as médias das variáveis do diâmetro do pseudocaule, da altura da muda, do número de folhas, do número de raízes principais e do comprimento da maior raiz. Para a variável diâmetro do pseudocaule, os tratamentos AG 8 e GR 1,8 foram os que obtiveram maiores valores com 6,89 mm e 6,83 mm, respectivamente. Estes dois tratamentos não diferiram estatisticamente dos tratamentos AG 6, FM 120, FM 140, AM 100, AM 120 e AM 140, demonstrando que tratamentos alternativos a base de fécula de mandioca e amido de milho tem potencial para serem substitutos dos gelificantes convencionais, no que se refere a parâmetros de diâmetro de pseudocaule.

Os tratamentos à base de sagu em todas as doses e amido de milho na dose de 80 g/L apresentaram os menores resultados para o diâmetro de pseudocaule, apresentando diferença significativa em relação aos tratamentos onde foram utilizados os gelificantes tradicionais. Assim, não seriam indicados como alternativo considerando este parâmetro de crescimento.

Os resultados apresentados por Prabhuling, Masthioli e Kerutagi (2014) não são equivalentes aos resultados aqui obtidos, com a cv. Grande naine. Estes autores compararam diversos agentes solidificantes alternativos, dentre eles sagu, amido de milho, fécula de tapioca, que pode ser considerado equivalente a fécula de mandioca, com agar na concentração de 6 g/L. Eles relatam que os tratamentos alternativos de sagu foram superiores ao agar, assim como fécula de tapioca.

O maior valor na variável altura de muda foi o AG 6, com uma altura média de 37,64 mm, valor semelhante ao valor apresentado por Prabhuling, Masthioli e Kerutagi (2014), que obteve para a cv. Grand Naine um valor de 3,68 cm (36,80 mm). Os tratamentos FM 120 e AM 140 não diferiram significativamente de AG 6, com valores de, 33,76 mm e 32,41 mm, respectivamente, demonstrando capacidade de substituição para os ágaros comuns. Os valores registrados para FM 120 e AM 140, foram semelhantes para este parâmetro aos obtidos pelos pesquisadores Prabhuling, Masthioli e Kerutagi (2014), confirmando os resultados do desempenho obtidos pelos tratamentos.

Costa et al (2007), utilizaram agentes gelificantes (ágar 6,0 g/L) sob substituição parcial, com fécula de mandioca, em fase de multiplicação de bananeira (*Musa spp.* cv. Grand Naine) e em abacaxizeiro (*Ananas comosus* cv. Quinari e Rio Branco). Eles relatam que foram significativas as substituições totais nos explantes de abacaxi, de modo que os agentes gelificantes utilizados separadamente foram melhores do que em substituições parciais. O tratamento fécula de mandioca na concentração de 60g/L apresentou desempenho satisfatório, não diferiu estatisticamente do tratamento utilizado apenas ágar comercial. Eles afirmam que para a bananeira, o tratamento com fécula de mandioca não apresentou resultados relevantes, diferentemente do que foi apresentado no presente trabalho, onde os tratamentos com fécula de mandioca (FM 120) foram significativos para algumas variáveis importantes, como altura de planta, diâmetro do pseudocaule e número de folhas.

A variável número de folhas teve como melhor tratamento o AG 6, com média de 5,57 folhas, alguns tratamentos alternativos se destacaram e não diferiram estatisticamente de AG 6, foram estes AM 140 com média de 5,07 folhas, FM 120 com 5,03 folhas, FM 140 com média de folhas de 4,97, S 100 com média 4,77, AM 80 com média de 4,70 folhas.

Prabhuling, Masthioli e Kerutagi (2014), encontraram como resultado para a mesma variável resultados semelhantes, porém em proporções distintas, de modo que ágargel 6,0 g/L obteve 3,36 folhas em média, e os demais tratamentos citados apresentaram resultados diferentes, como por exemplo fécula de mandioca na concentração 120 g/L apresentou um dos

menores valores entre os tratamentos. O que se contradiz no presente experimento, que para o mesmo tratamento (FM 120) foi um dos melhores tratamentos utilizados.

Na utilização dos meios gelificantes com fécula de mandioca para enraizamento de *Violeta Africana (Saintpaulia spp.)*, em relação ao número de folhas, essa substância na concentração 150 g/L, Santos (2014) apresentou resultados satisfatórios e confirmam os resultados obtidos por este trabalho, onde os tratamentos compostos por fécula de mandioca (FM 120 e FM 140) foram semelhantes estatisticamente ao AG 6 (controle), melhor tratamento para a variável.

Tabela 2 - Média das variáveis: diâmetro do pseudocaule da muda (mm) (DPCA), altura da muda (mm) (AMUD), número de folhas por muda (NFMU), número de raízes por muda (NRPM) e comprimento da maior raiz das mudas (CMRA). Tratamentos: GR 1,8: gelrite 1,8 g/L; AG 6: ágargel 6,0 g/L; AG 8: ágargel 8,0 g/L; S 100: sagu 100 g/L; S 120: sagu 120 g/L; S 140: sagu 140 g/L; FM 120: fécula de mandioca 120 g/L; FM 140: fécula de mandioca: 140 g/L; AM 80: amido de milho 80g/L; AM 100: amido de milho 100g/L; AM 120: amido de milho 120g/L; AM 140: amido de milho 140g/L

TRATAMENTOS	DPCA	AMUD	NFMU	CMRA	NRPM
GR 1,8	6,83 a	33,20 abc	4,90 ab	16,88 a	2,87 bcde
AG 6	6,14 ab	37,64 a	5,57 a	16,87 ab	3,47 abc
AG 8	6,89 a	31,51 abc	4,47 bc	16,83 ab	3,17 abcd
S 100	5,67 b	29,00 bc	4,77 abc	13,45 abcde	4,37 a
S 120	5,29 b	27,04 c	3,97 c	16,75 ab	1,83 e
S 140	5,16 b	27,45 bc	4,33 bc	11,67 cde	2,93 bcde
FM 120	5,90 ab	33,76 ab	5,03 ab	12,28 bcde	3,20 abcd
FM 140	6,22 ab	31,00 bc	4,97 ab	9,15 e	3,60 ab
AM 80	5,67 b	28,62 bc	4,70 abc	11,52 cde	3,10 bcd
AM 100	6,02 ab	30,16 bc	4,57 bc	13,82 abcd	2,10 de
AM 120	6,01 ab	28,39 bc	4,63 bc	9,50 de	2,37 cde
AM 140	5,93 ab	32,41 abc	5,07 ab	16,00 abc	2,87 bcde
F (ANOVA)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
C.V.	9,39	10,87	4,15	17,05	7,92

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a $p < 5\%$ de probabilidade.

A Tabela 2 apresenta dados sobre o comprimento das raízes nos tratamentos. Como melhor tratamento se destacou o GR 1,8 com média de comprimento da maior raiz de 16,88 cm, para essa variável alguns tratamentos que não diferiram significativamente, como os tratamentos alternativos S 100, S 120, AM 100 e AM 140.

Estes resultados diferem daqueles encontrados por Prabhuling, Masthioli e Kerutagi (2014), onde as maiores raízes foram medidas nos tratamentos com ágargel, e os meios alternativos com sagu, fécula de tapioca e amido de milho apresentaram raízes de menor tamanho.

Para Costa et al. (2014), que observaram diferentes sistemas de meios de cultivo (semissólido, estacionário e agitado) utilizado em bananeiras, demonstraram também resultados

positivos na variável número de raízes e negativos em comprimento de raízes, afirmaram em seu trabalho que o melhor tratamento a ser usado foi o líquido sob agitação.

Com relação ao número de raízes principais o tratamento alternativo S 100 foi o que apresentou o melhor resultado superando inclusive um dos tratamentos controles (GR 1,8), mas não AG 6 e AG 8. Os tratamentos alternativos que não demonstraram resultados estatisticamente diferentes de S 100 foram os tratamentos: FM 120 e FM 140.

Prabhuling, Masthioli e Kerutagi (2014), apresentaram suas informações dividindo-as em raízes primárias e secundárias, de forma que as informações de raízes principais deste experimento foram semelhantes do que os apresentados pelos autores em seu experimento com cv. Grand Naine, uma vez que o número de raízes constatados para o presente trabalho para S 100 foi de 4,37 e a média dos autores foi de 4,90 raízes por muda.

Santos (2014) apresentou resultados divergentes no cultivo *in vitro* da violeta africana com o uso de fécula de mandioca nas concentrações 100, 150 e 200 g/L, nesta variável (número de raízes), de forma que os resultados apresentados pelo autor mostram que dos três tratamentos com fécula de mandioca utilizados apenas a de menor concentração (100 g/L), obteve resultado satisfatório, semelhante ao desempenho dos tratamentos com concentrações maiores (FM 120 e FM 140) utilizadas no presente trabalho.

É possível observar na Tabela 2 que o tratamento AM 140, se destacou na maioria das variáveis, como diâmetro do pseudocaule, altura de muda, número de folhas e comprimento das maiores raízes, o tratamento FM 120 também se mostrou uma boa alternativa, apresentando resultados favoráveis para as variáveis: diâmetro do pseudocaule, altura da muda, número de folhas e número de raízes. Camoseli et al (2010), explicam que tal interação, entre o comprimento e número de raízes, ocorre devido a indução de raízes ocorrer nos primeiros 14 dias e depois desse período ocorre apenas o crescimento em comprimento das mesmas, isso pode ser observado neste trabalho devido os resultados de comprimento próximos, devido ao período de cultivo ter sido de 30 dias, onde os resultados obtidos para comprimento de raiz e número de raízes apresentados pela maioria dos tratamentos foi semelhante.

Mehrotra et al (2007) afirmam, em seu ensaio bibliográfico, que o meio líquido/semilíquido permite o contato próximo com o tecido da raiz, facilitando a absorção dos nutrientes e hormônios reguladores de crescimentos, levando a bons resultados em desenvolvimento de parte aérea e de raiz. Como é possível observar nos tratamentos FM 120 e 140 que obtiveram bom desempenho nas variáveis: diâmetro de pseudocaule, número de folhas, altura de planta (FM 120) e número de raízes.

A Tabela 3 apresenta as informações acerca das médias das variáveis matérias frescas e secas da parte aérea e da raiz. Para as variáveis matérias fresca e seca da parte aérea o AG 6 teve o melhor resultado, para as duas aferições, com média de 1,99 g e 0,14 g, nesta ordem. Para matéria fresca, o resultado de menor valor foi apresentado pelo S 140 com média de 1,09 g e para matéria seca a menor média foi demonstrada pelo AM 100 com 0,08 g. Os tratamentos FM 120 e FM 140 se destacaram com relação a matéria fresca com os seguintes valores 1,68 g e 1,67 g.

Tabela 3 - Média das variáveis: Matéria fresca da parte aérea (MFPA), Matéria fresca da raiz (MFPR), Matéria seca da parte aérea (MSPA) e Matéria seca da raiz (MSPR). Tratamentos: GR 1,8: Gelrite 1,8 g/L; AG 6: Ágargel 6,0 g/L; AG 8: Ágargel 8,0 g/L; S 100: Sagu 100 g/L; S 120: Sagu 120 g/L; S 140: Sagu 140 g/L; FM 120: Fécula de mandioca 120 g/L; FM 140: Fécula de mandioca: 140 g/L; AM 80: Amido de milho 80g/L; AM 100: Amido de milho 100g/L - Amido de milho 120g/L - AM 120; AM 140: Amido de milho 140g/L

TRATAMENTOS	MFPA	MFPR	MSPA	MSPR
GR 1,8	1,67 ab	0,78 ab	0,12 abc	0,05 abc
AG 6	1,99 a	0,68 abcd	0,14 a	0,03 c
AG 8	1,59 abc	0,61 abcd	0,10 bcd	0,048 abc
S 100	1,40 bc	0,76 abc	0,11 abcd	0,06 abc
S 120	1,32 bc	0,38 d	0,12 ab	0,06 ab
S 140	1,09 c	0,41 bcd	0,10 bcd	0,07 a
FM 120	1,68 ab	0,89 a	0,12 abc	0,07 a
FM 140	1,67 ab	0,63 abcd	0,11 abcd	0,05 abc
AM 80	1,24 bc	0,77 ab	0,10 bcd	0,06 ab
AM 100	1,28 bc	0,66 abcd	0,08 d	0,04 bc
AM 120	1,39 bc	0,95 a	0,09 cd	0,06 ab
AM 140	1,51 abc	0,40 cd	0,12 abc	0,05 abc
F (ANOVA)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
C.V.	17,68	27,34	15,95	26,36

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a p<5% de probabilidade.

Para matéria fresca da raiz, os melhores resultados foram apresentados pelos tratamentos AM 120 e FM 120, com 0,95 g e 0,89 g, respectivamente, e estes não diferiram estatisticamente dos três tratamentos convencionais, assim como do S 100, e dos tratamentos com utilização de amido, exceto pelo AM 140. O menor resultado para matéria fresca da raiz foi do tratamento S 120, com apenas 0,38 g, seguidos pelos tratamentos AM 140 e S 140.

Os resultados que se destacaram para a variável matéria seca da raiz foram obtidos pelos tratamentos S 140 e FM 120, ambos com 0,07 g, mas estes não diferiram estatisticamente de todos os outros tratamentos alternativos, exceto pela AM 100. Vale ressaltar que o AM 100 apresentou um dos piores resultados em termos de número de raízes, podendo assim ter

interferido na baixa massa seca. O menor resultado apresentado foi do tratamento AG 6 com apenas 0,03 g de média.

Soares et al (2014), substituindo parcialmente agentes gelificantes padrão (ágargel) por amido de milho e fécula de araruta encontraram resultados favoráveis ao crescimento das plantas de *Dendrobium nobile*, os autores afirmam que a substituição favoreceu o crescimento das mudas, porém a substituição total, não foi considerada benéfica, o que ocorre em oposição no presente trabalho, onde a substituição total do agente gelificante não provocou mudanças significativas nos dados observados, como por exemplo a matéria fresca da raiz com o tratamento AM 120 obteve a melhor e maior média da variável, sendo comparada positivamente com os tratamentos controles.

5.2. Avaliação reológica do meio de cultura.

Nas figuras 1 e 2, a seguir é possível observar que os valores de G' foram superiores aos valores de G'' , em média na proporção de 10 vezes, nas frequências de 0,1 a 10 Hz demonstrando que os módulos eram estáveis, porém com frequências maiores que 10 Hz, os géis passaram a se comportar de outra forma, começando a serem alterados. As linhas mais distantes em ambos os gráficos representam os módulos G' (Figura 1) e G'' – (Figura 2) do tratamento composto por ágargel, gelificante comercial utilizado para a produção de mudas in vitro, na concentração de 8,0 g/L, o segundo maior valor apresentado foi do tratamento utilizando amido de milho com 140 g/L.

Meneguín (2012) demonstrou o efeito da substituição parcial do ágar por amido de milho vegetal nas características reológicas do meio de cultivo, foi observado que a ausência de ágar ou redução de sua concentração causa diminuição na rigidez dos géis (menor valor de G'). Neste trabalho isso pode ser observado nos tratamentos FM 120, FM 140, S 100, 120 e 140, AM 80 e 120, estes apresentaram os valores de G' reduzidos.

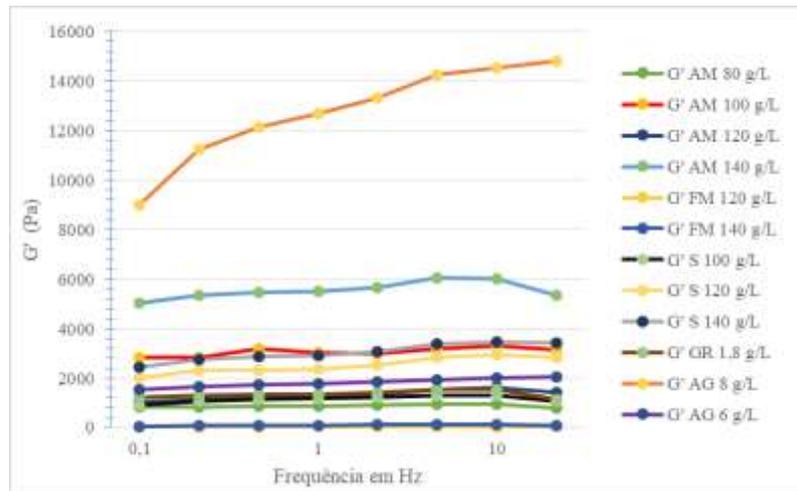


Figura 1. (A) Gráfico de varredura de frequência do módulo de cisalhamento elástico (G'). Frequências aplicadas de 0,1 a 10 Hz. AM = amido de milho, FM = fécula de mandioca, S = sagu, AG = ágargel; GR= gelrite.

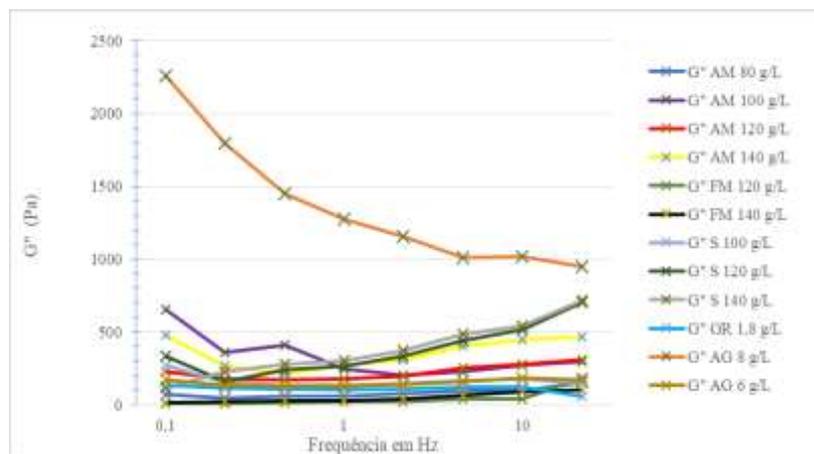


Figura 2. (B) Gráfico de varredura de frequência do módulo de cisalhamento viscoso (G''). Frequências aplicadas de 0,1 a 10 Hz. AM = amido de milho, FM = fécula de mandioca, S = Sagu, AG = ágargel; GR= gelrite.

Resultados semelhantes foram obtidos por Meneguim (2009), em seu experimento de substituição parcial do ágar em meios de cultivo, onde o autor constatou que meios com apenas o ágar convencional possuía maiores valores de módulos de G' e G'' . Bem como nesse experimento, o tratamento com o mesmo produto convencional em concentração menor, ágargel 6,0 g/L, apresentou valores de módulos menores que os demais tratamentos, ocupando a 6ª posição no aspecto rigidez (Figura 3).

A figura 3, mostra o gráfico das médias dos módulos de cisalhamento elástico e viscoso, onde é possível observar os valores das tensões (em Pa) que devem ser aplicadas para cada um dos tratamentos, onde o que apresenta maior resistência ou valor de tensão é o ágargel 8,0 g/L, seguido dos tratamentos com amido de milho nas concentrações 140 e 100 g/L. Os tratamentos que foram classificados com os géis frágeis e sofreram perturbações com pequenas tensões foram os compostos por fécula de mandioca nas concentrações 140 e 120 g/L, respectivamente.

Foi observado em todos os tratamentos analisados a dependência e interação de G' sempre superior a G'' . Essa interação corrobora os resultados de Monteiro (2009), onde o autor define que um gel fraco é uma substância em que os módulos G' e G'' são dependentes da frequência aplicada. O que foi observado em todos os tratamentos analisados, menos para FM 120 e 140.

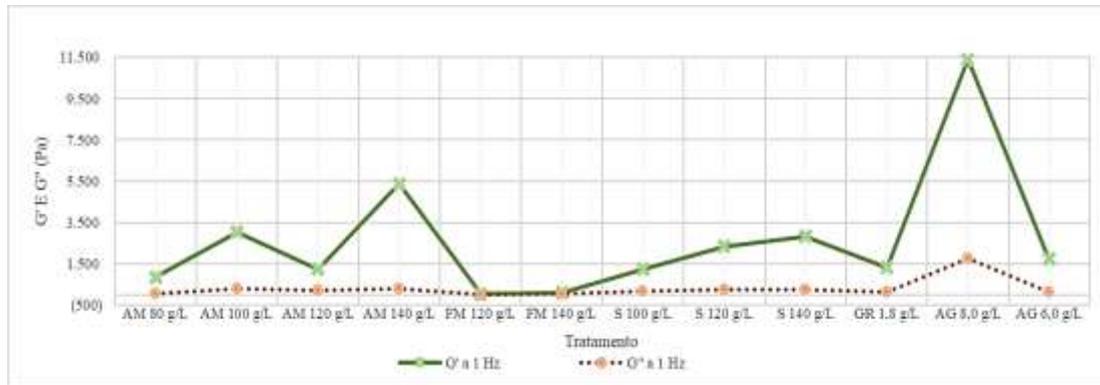


Figura 3. Gráfico das médias dos módulos de cisalhamento elástico (G') e de cisalhamento viscoso (G'') dos tratamentos. AM = amido de milho, FM = fécula de mandioca, S = sagu, AG = ágargel; GR= gelrite.

Um meio de cultivo deve ter estrutura firme, de forma a oferecer sustentação para o explante que nele será inoculado, bem como fluidez o suficiente para favorecer o crescimento das raízes e a absorção de nutrientes contidos no meio. Como observado anteriormente, as mudas inoculadas no meio de cultivo gelificado com amido de milho, nas concentrações de 80 e 120 g/L, mesmo não apresentando valores tão altos de G' e G'' , eles apresentaram os menores valores para as variáveis número de raízes e comprimento da maior raiz. Isso pode estar associado a dificuldade de penetração o meio que as mudas tiveram no desenvolvimento as raízes e na absorção de nutrientes no meio de cultivo, bem como valores reduzidos para DPCA e AMUD.

Os tratamentos FM 120 e FM 140 obtiveram os menores valores de cisalhamento elástico e viscoso, apresentando consistência menos firme, de modo a confirmar os resultados obtidos pelos tratamentos utilizados por Santos (2014) (100, 150 e 200 g/L de fécula de mandioca) para a cultura de violeta africana, nas concentrações testadas apresentaram uma consistência menos firme que o gelificado com o ágar.

Como foi observado quando se compara o desempenho dos tratamentos FM 120 e FM 140 com os resultados obtidos (Tabela 2) pelos tratamentos controles (GR 1,8, AG 6 e AG 8), onde o número de raízes é semelhante, entretanto o comprimento médio da maior raiz é superior nos meios contendo agentes gelificantes padrão. Isso pode ser explicado devido a facilidade que as raízes têm de penetrar e de desenvolver dentro do meio, além de ter acesso irrestrito dos

nutrientes e do fitoregulador de crescimento (ANA 0,1 mg/L). Conforme Camoseli et al (2010), as mudas de bananeira micropropagadas submetidas a meios de cultivo líquidos apresentaram números satisfatórios de raízes, porém com tamanho de raízes reduzidos, diferentemente dos meios semissólidos, que apresentam números de raízes correspondentes ao tamanho das mesmas.

Segundo Meneguín (2012), descreveu que a teoria mais aceita diz que o aumento de G' gera como resultado a existência de uma rede interdependente, na qual as cadeias de polímeros se associam em uma fase única de gel. O que pode ter levado a não solidificação dos meios de alguns tratamentos (FM 120 e 140).

6. CONCLUSÃO

Nas variáveis diâmetro do pseudocaule e comprimento da maior raiz, o tratamento GR 1,8 (Gelrite 1,8 g/L) foi o que obteve os maiores valores. Para as variáveis altura de planta, número de folhas, massa fresca e seca de parte aérea, o tratamento AG 6 (Ágargel 6,0 g/L) foi o que obteve maiores valores. Ambos (GR 1,8 e AG 6) não diferiram entre si estatisticamente.

Os tratamentos compostos por amido de milho 140 g/L (AM 140) e fécula de mandioca 120 g/L (FM 120) foram os que mais se aproximaram dos tratamentos padrão, pois se igualaram estatisticamente na maioria das variáveis, como diâmetro do pseudocaule, altura de planta e número de folhas.

Entre os tratamentos utilizando sagu, o tratamento S 120 foi o que se destacou para a variável comprimento da maior raiz. O tratamento FM 120 apresentou desempenho satisfatório nas variáveis massa fresca e seca da raiz, sendo nesta variável (massa seca da raiz) acompanhado pelo tratamento S 140.

Na análise reológica, os tratamentos FM 120 e FM 140, foram os que obtiveram os menores valores de cisalhamento, determinando sua fragilidade e fluidez. Significando meio de cultivo mais emoliente, penetrável e que favorece o contato das raízes com meio proporcionando maior absorção dos nutrientes os nutrientes.

Já os tratamentos AG 8, AM 140 e 100 foram os que obtiveram os maiores valores de cisalhamento, sendo os mais resistentes a frequências e a pressões impostas ao meio.

Os tratamentos AM 80 e 120 apresentaram módulos G' e G'' elevados, gerando resultados negativos nas análises das plantas demonstrando valores reduzidos nas variáveis número de raízes e comprimento da raiz.

A partir das avaliações morfológicas das mudas de bananeiras e das análises reológicas realizadas conclui-se que as substâncias fécula de mandioca e amido de milho podem ser consideradas boas substitutas para os agentes gelificantes convencionais (ágargel e gelrite).

Os produtos sagu na concentração 120g/L e amido de milho 80, 100 e 120 g, não apresentaram valores satisfatórios nas análises realizadas, não sendo indicados para a utilização como agentes gelificantes em meios de cultivo para a bananeira cultivar Prata Catarina.

7. AGRADECIMENTOS

À UNILAB, por fornecer subsídios físicos, didáticos e de quadro de professores que permitiram elaborar e executar este experimento.

À EMBRAPA, por permitir a realização deste trabalho, disponibilizando recursos físicos e intelectuais para tal execução.

À Biofábrica BIOCLONE, por fornecer as mudas sem nenhum custo financeiro para a execução do experimento.

Aos meus familiares, amigos e namorado pelo apoio durante todo o percurso que foi o curso de agronomia.

Aos professores desta instituição (UNILAB), por passarem o que lhes foi aprendido e me ajudar na minha formação acadêmica e profissional.

À Dr^a Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho por ter me recebido e me orientado com tanto carinho, sem a senhora este trabalho não seria possível.

8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

CAMOSELI, Mara Rubia; MARTINS, Adriana Novais; SOUZA, Lara Daniela de; SACONI, Cibelle Garcia. Enraizamento in vitro de mudas micropropagadas de bananeira (*Musa sp.*) em diferentes meios de cultivo. **CIÊNCIA E AGROTECNOLOGIA**, Lavras, v.34, n. 6, p. 1446-1451, nov/dez, 2010

CARVALHO, Ana Cristina Portugal Pinto de. RODRIGUES, Antonio Anderson de Jesus. SANTOS, Éder de Oliveira. **Produção de Mudas Micropropagadas de Bananeira**. Circular técnica 37. 2012. Embrapa Agroindústria Tropical. 14 p. ISSN: 1679-2254.

COSTA, Annanda Mendes; FARIA, Renata Aparecida Neres; LONDE, Luciana Nogueira; RIBEIRO, Emerson Brito; DAMASCENA, Nayara de Souza. Cultivo in vitro de bananeira Prata Anã clone Gorutuba, em meio líquido, agitado e estacionário. **REVISTA CERES**, Viçosa, v. 63, n.3, p.277-281. Mai/jun, 2014.

COSTA, Frederico Henrique da Silva; PEREIRA, Maria Aparecida Alves; OLIVEIRA, Janiffe Peres de; PEREIRA, Jonny Everson Scherwinski. Efeito de agentes geleificantes alternativos no meio de cultura no cultivo in vitro de abacaxizeiro e bananeira. **REVISTA CIÊNCIA E AGROTECNOLOGIA**, Lavras, v.31, p.41- 46, 2007.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropécuária. **Production of Banana in the world - 2016**. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, 2018, 5p. Disponível em:

http://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_pdf/dados/mundo/banana/w1_banana.pdf. Acesso em: 18 mar. 2019

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropécuária. **Tabela – Produção brasileira de Banana em 2017**. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, 2018, 4p.

Disponível em:

http://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_pdf/dados/brasil/banana/b1_banana.pdf. Acesso em: 18 mar. 2019

GALLO, Juliana Maria Altavista Sagretti. **Avaliação do comportamento reológico e das propriedades sensoriais de molhos comerciais para salada tratados por irradiação**. 99 f, Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Autarquia associada á Universidade de São Paulo. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2013.

GOVINDARAJU, S.; et al. In vitro propagation of Banana (Musa sp. - Rasthali variety) from sword suckers for its commercial production. **RESEARCH IN PLANT BIOLOGY**, Índia, v. 2, n. 5, p. 1-6, 2012. Disponível em:

<https://updatepublishing.com/journal/index.php/ripb/article/view/2533>. Acesso em: 18 mar. 2019.

MEHROTRA, Shakti, et al. Efficiency of liquid culture systems over conventional micropropagation: A progress towards commercialization. **AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY**. Nairobi v.6, n. 13, p. 1484-1492, 2007.

MENEGUIN, Rhayla Gomes. **Análise reológica de géis ágar/galactomanana visando aplicação em meios de micropropagação vegetal**. 2009. 79 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Departamento de Bioquímica e biologia Molecular. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

_____. **Géis de ágar/galactomanana de *Schizolobium parahybae* ((vell.) Blake) (guapuruvu): análises reológicas e por microscopia eletrônica de varredura**. 2012. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Departamento de Bioquímica e biologia Molecular. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

MONTEIRO, Aliny Abreu de Sousa. **Síntese e caracterização de géis de Galactomanana de Fava danta (*Dimorphandra gardneriana*) para aplicação biológica**. 2009. 86 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química orgânica e inorgânica. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **PHYSIOLOGIA PLANTARUM**, v. 15, p. 473-497, 1962.

Disponível: <

http://priede.bf.lu.lv/grozs/AuguFiziologijas/Augu_audu_kulturas_MAG/literatura/03_Murashige%20Skooog1962.pdf> Acesso em: 12 set. 2018.

OLIVEIRA, João Alison Alves; BRUCKNER, Cláudio Horst; SILVA, Danielle Fabíola Pereira. **Estado atual da Bananicultura em Minas Gerais**. Universidade federal de Viçosa, Viçosa, 2018 11 p. Disponível em: <https://www.todafruta.com.br/wp-content/uploads/2018/05/BANANA.pdf>. Acesso em: 18 mar. 2019.

PRABHULING, G.; MASTIHOLI, A.B.; KERUTAGI, M.G.; Low-cost gelling agents for micro-propagation of banana (*Musa acuminata*) cv. 'GRANDE NAINÉ'. **INTERNATIONAL JOURNAL OF PLANT SCIENCES**. Belgaum, Índia, v. 9, n. 1, p. 46-51, 2014.

QUISEN, Regina Caetano; ANGELO, Paula Cristina da Silva. **Documentos 61 – Manual de Procedimentos do Laboratórios de Cultura de Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental**. EMBRAPA Amazônia Ocidental, Manaus, Amazonas. 2008 48 p.

RAKSHI, Majuja, et al. A review on Low cost micro propagation techniques in banana. **JOURNAL OF PHARMACOGNOSY AND PHYTOCHEMISTRY**. Arabhavi, Índia, v. 1, n. 1, p. 357-359, 2017.

SANTOS, Amilton Martins dos; SILVA, Rafael Caetano J. P.; **Comportamento Térmico dos Polímeros – Parte 3**. Apresentação de slides. [São Paulo, Universidade de São Paulo, 201-?] 22p.

SANTOS, Eder de Oliveira. **Adubações orgânicas e mineral em mudas micropropagadas de bananeira cv. Prata Catarina durante a aclimação**. 2014. 82 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas). Solos e Nutrição de plantas. Programa de Pós-Graduação em solos e Nutrição de plantas, Departamento de Solos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

SANTOS, Joel Cabral dos. **Meios alternativos para cultivo in vitro de Violeta Africana (Saintpaulia spp.) e efeito de descontaminantes no cultivo in vitro de Palma forrageira (Nopalea cochenilifera Salm-Dyck)**. 2014. 68 f. Monografia (Graduação em agronomia) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba. Areia, 2014.

SARASWATHI, M.S. et al. Cost-effective tissue culture media for large-scale propagation of three commercial banana (*Musa* spp.) varieties. **THE JOURNAL OF HORTICULTURAL SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY**, Tamil Nadu, v. 91, n. 1, p. 23-29, 2006. DOI: 10.1080/14620316.2015.1117227. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14620316.2015.1117227>. Acesso em: 05 ago. 2018.

SOARES, Jackeline Schultz; et al. Utilização de agentes geleificantes alternativos no cultivo *in vitro* de *Dendrobium nobile* Lindl. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA: Centro Científico Conhecer, Goiânia**, v. 10, n. 19; p 1832-1838, 2014.