

Concentrações de carvão ativado no desenvolvimento de explantes de mandioca através da micropropagação *in vitro*

Daiane Patricia Manica¹; Erivan de Oliveira Marreiros¹; Douglas André Steinmacher²;

¹Curso de Agronomia, Centro Universitário Assis Gurgacz (FAG), Cascavel, Paraná

¹daiane_manik@hotmail.com

Resumo: A mandioca é propagada vegetativamente através de maniva, o que gera um obstáculo à sua propagação. A micropropagação é uma técnica viável para a formação de mudas em grande escala, mantendo assim as características genéticas. Este trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos do carvão ativado no desenvolvimento de explantes de mandioca, produzidos através da micropropagação *in vitro*. O experimento foi realizado na cidade de Marechal Cândido Rondon - PR, em laboratório de cultura de tecido, entre os meses de março de 2020 a junho de 2020. Conduzido por DBC, tendo um fator experimental de 2x4, composto por duas variedades de mandioca (BRS CS01 e BRS 420) e quatro doses de carvão ativado, adicionados ao meio de cultura MS, nas seguintes concentrações: T1:Testemunha; T2:0,5 g L⁻¹; T3:1,0 g L⁻¹; T4:2,0 g L⁻¹. Através de uma contagem foi avaliado o número de gemas, folhas senescentes, folhas verdes e o número de explantes oxidados, com o uso de balança analógica foi mensurada a massa fresca de raiz. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e as médias, quando significativas, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. A adição do carvão ativado ao meio de cultura MS, não se mostrou necessária para o desenvolvimento de explantes de mandioca através da micropropagação *in vitro*. Houve melhor desenvolvimento dos explantes na ausência do carvão ativado para as duas cultivares analisadas.

Palavras-chave: carvão ativado; cultivo *in vitro*. micropropagação.

Abstract: Cassava is propagated vegetatively by means of a hand, which creates an obstacle to its propagation. Micropropagation is a viable technique for the formation of seedlings on a large scale, thus maintaining the genetic characteristics. This work aims to evaluate the effects of activated carbon on the development of cassava explants, produced through in vitro micropropagation. The experiment was carried out in the city of Marechal Cândido Rondon - PR, in a tissue culture laboratory, from March 2020 to June 2020. Conducted by DBC, with an experimental factor of 2x4, composed of two varieties of cassava (BRS CS01 and BRS 420) and four doses of activated carbon, added to the culture medium MS, in the following concentrations: T1: Control; T2: 0.5 g L⁻¹; T3: 1.0 g L⁻¹; T4: 2.0 g L⁻¹. Through a count, the number of buds, senescent leaves, green leaves and the number of oxidized explants were evaluated, using the analogue scale the fresh root mass was measured. The data were submitted to analysis of variance (ANOVA), and the means, when significant, compared by the Tukey test at 5% significance. The addition of activated carbon to the MS culture medium was not necessary for the development of cassava explants through in vitro micropropagation. There was a better development of explants in the absence of activated carbon for the two cultivars analyzed.

Keywords: ctivated charcoal; *in vitro* cultivation; micropropagation.

Introdução

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), possui uma boa adaptabilidade a diversos ambientes, rusticidade e baixa exigência de fertilidade do solo (ALVES, 2002). Devido a essas características a mandiocultura é largamente cultivada em todo o território brasileiro, de norte a sul, cultivada em sua grande maioria por pequenos produtores (MODESTO JÚNIOR *et al.*, 2016).

Segundo dados da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), a mandioca é a quarta cultura mais produzida no mundo, sendo a Nigéria o principal produtor em relação a quantidade, o Brasil se destaca como o quarto maior produtor, sendo o terceiro no ranking de área colhida, (MODESTO JÚNIOR *et al.*, 2016). É considerada a terceira maior fonte de carboidratos, é aproveitada em sua totalidade, ou seja, pode ser utilizado raízes, folhas e caule, sendo a raiz a parte mais utilizada, pois dela se extrai a fécula, principal produto derivado da mandioca (CASTRO E MOREIRA, 2016).

Segundo a Conab, a estimativa de produção brasileira de raiz de mandioca para o ano de 2020, de acordo com a última atualização do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE (março/2020), é de 19,1 milhões de toneladas, cultivadas numa área de 1,36 milhão de hectares, representando uma produtividade de 14,82 t/ha. Em relação a 2019 (18,9 milhões de toneladas), houve um aumento de 0,70% na produção. Porém, em relação a área plantada houve uma redução de 1,79%, levando a produtividade ao patamar de 14,85t/h, frente à 15,15t/h em 2019, redução de 2,13%.

Dentre as principais cultivares de mandioca destacam-se duas cultivares lançadas no mercado pela Embrapa Mandioca e Fruticultura, a cultivar BRS CS01 e BRS 420, segundo a Embrapa (2016) a BRS CS01 é uma cultivar de mandioca para indústria, recomendada para cultivo nas regiões sul/sudeste do Mato Grosso do Sul, noroeste e extremo oeste do Paraná, com ciclo precoce, é a primeira cultivar adaptada para o plantio direto, o que gera sustentabilidade a cultura da mandioca. Já a BRS 420 também desenvolvida pela Embrapa (2019), recomendada para os estados do Paraná e Mato Grosso do Sul, possui alto teor de amido, ciclo precoce, tolerância à bacteriose e antracnose, adaptada para vários tipos de solos e também adaptada para o plantio direto.

A taxa de multiplicação da mandioca é baixa, o que gera um obstáculo à sua propagação em larga escala (SANTOS *et al.*, 2009). Ainda segundo Santos *et al.* (2009), embora produza sementes, comercialmente a mandioca é propagada vegetativamente, por meio de pedaços de caule, durante o período de 12 meses obtém-se de 5 a 10 manivas por planta, essa propagação

aumentar a transmissão de pragas e patógenos entre as gerações sucessivas, esses aspectos contribuem para a escassez de manivas de boa qualidade a disposição do agricultor.

Tendo em vista a importância econômica e social da mandioca está se intensificando cada vez mais o interesse em utilizar a biotecnologia em prol dessa cultura, aumentando os programas de melhoramento genético, de modo a contribuir para o desenvolvimento de variedades mais produtivas e ricas nutricionalmente (SILVEIRA, 2017).

A micropropagação pode ser descrita como a propagação em larga escala de um genótipo selecionado, por técnicas de cultura *in vitro* (GUERRA *et al.*, 2016). A produção de mudas por meio da técnica *in vitro* é bastante utilizada em diversos países como Europa, Ásia, Estados Unidos e também no Brasil (CANÇADO *et al.*, 2009).

Ainda segundo Guerra *et al.* (2016), as principais vantagens da micropropagação são as altas taxas de multiplicação, a rapidez com que este processo ocorre, o controle das condições de cultivo, a propagação contínua ao longo do ano, a obtenção de propágulos livres de patógenos, e sua adaptação para plantas de difícil propagação por meio das técnicas convencionais, como estaca ou sementes.

Sendo assim, a micropropagação é uma técnica viável para a formação de mudas em grande escala, mantendo assim as características genéticas, uniformidade, precocidade de produção e acelerando os métodos de propagação convencional sendo uma alternativa para os produtores (JUNGHANS & SOUZA 2013).

No entanto um problema relacionado a micropropagação está a oxidação dos explantes, o que ocorre na grande maioria das espécies multiplicadas por meio desta técnica, essa oxidação ocorre devido a liberação de compostos fenólicos da planta, sendo necessário o uso de antioxidantes no meio de cultura (FAGUNDES *et al.*, 2017).

Entre os antioxidantes utilizados na técnica de produção *in vitro*, destaca-se o carvão ativado, um componente que tem sido adicionado com frequência aos meios de cultura, mais cujos efeitos ainda são poucos conhecidos (WINKLE *et al.*, 2003). Existe algumas considerações de que o carvão ativado promove a adsorção de hormônios, produtos do metabolismo da planta e metabólicos tóxicos, como os compostos fenólicos, além de outros componentes presentes no meio de cultura (COSTA *et al.*, 2006).

Para controlar a oxidação dos explantes, o carvão ativado é amplamente empregado nos meios de culturas, por ter a capacidade de adsorver os compostos fenólicos liberados pelos tecidos vegetais (STEINMACHER, 2005). Estudo realizado por Steinmacher (2005) para avaliar a germinação de pupunha, descreve os resultados positivos na germinação de embriões,

na formação de raiz e no crescimento das plântulas de pupunha em meios de cultura com a presença de carvão ativado.

Este trabalho tem como objetivo avaliar o desenvolvimento de explantes de mandioca atrás da micropropagação *in vitro*, em meio de cultura com a presença de carvão ativado em diferentes concentrações.

Material e métodos

O experimento foi conduzido na cidade de Marechal Cândido Rondon, localizada na região oeste do Paraná, em um laboratório de cultura de tecidos, nos meses de março de 2020 a junho de 2020. O material vegetativo utilizado foi constituído de duas cultivares de mandioca, BRS CS01 e BRS 420, disponibilizadas pela Embrapa mandioca e fruticultura, com sede em Cruz das Almas- BA.

O delineamento experimental foi composto por um esquema fatorial 2x4, em cinco blocos casualizados, composto por duas variedades de mandioca e quatro doses de carvão ativado, adicionado ao meio de cultura sólido, nas seguintes concentrações, T1: testemunha; T2: 0,5 g L⁻¹; T3: 1,0 g L⁻¹; T4: 2,0 g L⁻¹. O experimento foi composto por cinco repetições, totalizando 32 unidades experimentais por bloco, sendo cada uma dessa composta por um recipiente de vidro contendo seis explantes cada, totalizando 160 parcelas.

O meio de cultura utilizado no experimento foi o MS (Murashige e Skoog, 1962), composto por macronutrientes, micronutrientes e ferro, todos os componentes foram reduzidos pela metade comparado a formulação original do meio de cultura.

Tabela 1- Composição química das diferentes composições químicas salinas utilizadas na germinação de explantes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz).

Macronutrientes	Mg L ⁻¹
NH ₄ NO ₃	825
KNO ₃	950
MgSO ₄ ·7 H ₂ O	185
CaCl ₂ ·2 H ₂ O	220
KH ₂ PO ₄	85
Micronutrientes	Mg L ⁻¹
KI	0,415
H ₃ BO ₄	3,10
MnSO ₄ · 4 H ₂ O	7,8
ZnSO ₄ · 7 H ₂ O	4,30
CoCl ₂ · 6 H ₂ O	0,0125
Fonte de Ferro	Mg L ⁻¹
Na ₂ EDTA	18,65
FeSO ₄ · 7H ₂ O	13,9

Fonte: Formulação salina MS (Murashige e Skoog, 1962)

Adicionado as vitaminas de Morel e Wetmore (1951), 20,0 g L⁻¹ de sacarose e 2,0 g L⁻¹ de gellex[®] para solidificar. Suplementado com hormônios segundo as recomendações da (EMBRAPA, 2013) ácido naftalenoacético (ANA) 0,02 mg L⁻¹, benzilaminopurina (BAP) 0,04 mg L⁻¹, ácido giberélico (GA₃) 0,05 mg L⁻¹. De acordo com (ROGALASKI *et al.* 2003), o uso desses reguladores contribuem para o êxito da micropropagação, destacando-se entre eles as citocininas e as auxinas. Com pH ajustado para 5,8, o meio de cultura foi distribuído em vidros e fechados com tampas transparentes, em seguida esterilizados em autoclave, com temperatura de 121°C, durante 30 minutos.

Para obter o material vegetativo utilizado no experimento foram plantados manivas em posição vertical, em bandejas com substrato e mantidas em casa de vegetação por aproximadamente 60 dias. Após esse período foram retiradas as hastes da planta mãe e segmentadas com aproximadamente 3 cm próximo a região das gemas laterais, em seguida os segmentos foram submetidos a um processo de desinfecção. A desinfecção foi realizado com imersão do material em álcool 70% por 2 minutos, seguida de uma imersão de 15 minutos em solução de hipoclorito de sódio, contendo 3 gotas de detergente. Posteriormente o material foi levado a câmara de fluxo laminar, onde foi realizado três enxágue com água esterilizada para retirar todo o excesso de hipoclorito de sódio. Com auxílio de pinça e bisturi esterilizados, os explantes foram reduzidos, em seguida introduzidos na superfície do meio de cultura, os vidros foram fechados com filme PVC e levados para a sala de crescimento, sob condições controladas com fotoperíodo de 12 horas, e temperatura entre 28 °C e a umidade relativa controlada com o auxílio de um desumidificador.

Após 60 dias de inoculação, as variáveis analisadas foram: número de gemas; número de folhas senescentes; e número de folhas verdes, avaliados através de uma contagem; e massa fresca de raiz, que foi avaliada com o uso de balança analógica. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e as médias quando significativas comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Resultados e discussões

Após 60 dias de inoculação dos explantes *in vitro*, em meio de cultura MS, com a adição de carvão ativado nas seguintes concentrações T1: 0,0 g L⁻¹; T2: 0,5 g L⁻¹; T3: 1,0 g L⁻¹; T4: 2,0 g L⁻¹, foi verificado efeito significativo do carvão para o desenvolvimento de gemas e para o número de folhas verdes nas plântulas das duas cultivares de mandioca. O número de folhas senescentes não foi afetado significativamente pela adição de carvão ativado em nenhuma das cultivares avaliadas. Em contra partida, para as variáveis massa fresca de raiz e número de

explantes oxidados o carvão ativado não foi benéfico. Para a formação de raízes os melhores resultados foram observados na testemunha, e o número de explantes oxidados aumentou na presença de carvão ativado, em todas as concentrações citadas acima.

Tabela 2 - Médias obtidas para as variáveis: número de gemas (NG), número de folhas senescentes (FS), massa fresca de raiz (MFR), em experimento fatorial 2x4.

Concentrações de carvão ativado: T1: Testemunha; T2: 0,5 g L⁻¹; T3: 1,0 g L⁻¹; T4: 2,0 g L⁻¹

Cultivares de mandioca						
	BRS C01	BRS 420	BRS C01	BRS 420	BRS C01	BRS 420
	NG (und)		NFS (und)		MFR (g)	
T1	18,46 a A	17,95 a A	11,13 a A	10,78 a A	0,97 a B	1,17a A
T2	16,93 a A	13,80 a A	8,23 a A	10,13 a A	0,15 b A	0,21 b A
T3	17,71 a A	11,55 a B	12,36 a A	9,85 a A	0,19 b A	0,10 b A
T4	18,36 a A	15,01 a A	11,73 a A	11,39 a A	0,19 b A	0,34 b A
Média	17,87	14,57	10,86	10,54	0,38	0,46
CV (%)	26,83		22,88		37,67	

CV = coeficiente de variação. Médias seguidas de letra maiúscula na linha difere a variedade, letra minúscula na coluna difere as doses de carvão ativado. Médias, seguidas de mesma letra, dentro de cada parâmetro, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Fonte: Arquivo pessoal (2020).

Tabela 2 (cont.) - Médias obtidas para as variáveis: número de folhas verdes (NFV), número de explantes oxidados (NEO), em experimento fatorial 2x4.

Concentrações de carvão ativado: T1: Testemunha; T2: 0,5 g L⁻¹; T3: 1,0 g L⁻¹; T4: 2,0 g L⁻¹

Cultivares de mandioca				
	BRS C01	BRS 420	BRS C01	BRS 420
	NFV (und)		NEO (und)	
T1	10,10 a A	14,60 a A	0,86 a A	0,55 b A
T2	14,68 a A	11,48 a A	1,78 a A	1,62 ab A
T3	16,44 a A	10,28 a B	1,43 a B	2,55 a A
T4	16,95 a A	10,95 a B	0,88 a A	1,56 ab A
Média	14,54	11,82	1,26	1,56
CV (%)	31,12		88,92	

CV = coeficiente de variação. Médias seguidas de letra maiúscula na linha difere a variedade, letra minúscula na coluna difere as doses de carvão ativado. Médias, seguidas de mesma letra, dentro de cada parâmetro, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Fonte: Arquivo pessoal (2020).

Para a variável número de gemas, houve diferença estatística quando comparado as duas cultivar submetidas ao tratamento 3, ou seja com 1,0 g L⁻¹ de carvão ativado adicionado ao meio de cultura. A cultivar BRS 420 resultou com um menor desenvolvimento de gemas quando comparada a cultivar BRS C01 com o mesmo tratamento. Em estudo realizado por (VILLA, *et al.* 2014) na micropropagação de híbridos de orquídeas o carvão ativado promoveu influência positiva para o desenvolvimento de novas gemas. Sendo importante ressaltar que cada gema se tornara um novo explante no processo de multiplicação. Sendo assim a BRS C01 atribuiu maior qualificação para o processo de multiplicação *in vitro* com o tratamento 1,0 g L⁻¹. Para as concentrações de carvão ativado os resultados foram semelhantes em todos os tratamentos, apresentando níveis satisfatórios para a micropropagação.

Em relação a massa fresca de raiz, a testemunha se deferiu dos demais tratamentos, ou seja, os explantes que não receberam carvão ativado no meio nutritivo apresentaram maior desenvolvimento de raiz, quando comparado aos tratamentos com carvão ativado. Na ausência de carvão ativado, observou-se que as duas cultivares apresentaram maior desenvolvimento de massa fresca e com maior vigor nas raízes. Para (Santos *et al*, 2006) o maior número de raiz no cultivo do por meio da micropropagação do pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb) foi observado na ausência de carvão ativado em relação ao meio contendo o componente.

Nas diferentes concentrações de carvão ativado adicionadas ao meio de cultura, observou-se que o carvão ativado limitou o crescimento das raízes, no entanto para (GALDIANO JUNIOR, *et al*. 2012) onde em estudo realizado para observar o crescimento *in vitro* de *Cattleya loddigesii* com carvão ativado sob dois aspectos luminosos, descreve que concentrações elevadas de carvão ativado favoreceram o desenvolvimento de raiz. Já no presente trabalho observou-se que nas duas cultivares de mandioca avaliadas, as raízes se apresentaram extremamente finas e com tamanho reduzido quando comparadas as raízes que se desenvolveram na ausência de carvão ativado.

Para a avaliativa número de folhas senescente as medias não foram significativas, ou seja, não apresentaram diferença significativa para as cultivares ou concentrações de carvão ativado adicionado ao meio de cultura, mesmo apresentando senescência foliar os valores não foram significativos ou importantes para afetar o desenvolvimento dos explantes. Em estudo realizado por (CANDIDO, 2013), onde observou o senescência foliar no cultivo *in vitro* de *Peltophorum dubium* a autora relata a senescência como sendo algo proporcionado pelo tempo de permanência dos explantes no meio nutritivo, a temperatura e luminosidade do local, podendo também ser influenciada pela presença de reguladores de crescimento.

Observou-se interação significativa entre cultivares e concentrações de carvão ativado, para a variável número de folhas verdes. Com o tratamento 2 e 3, nas seguintes concentrações respectivamente $1,0 \text{ g L}^{-1}$ e $2,0 \text{ g L}^{-1}$ de carvão ativado ao meio de cultura, a cultivar BRS C01 obteve melhores medias quando comparada a BRS 420 com o mesmo tratamento. Por outro lado para a cultivar BRS 420 observou-se as melhores medias com os tratamentos 1 e 2, nas seguintes concentrações respectivamente $0,0 \text{ g L}^{-1}$ e $0,5 \text{ g L}^{-1}$ de carvão ativado adicionados ao meio de cultura, onde o desenvolvimento das folhas foram mais significativos na ausência ou na concentração mais baixa de carvão ativado. O carvão ativado não é um regulador de crescimento, mas modifica a composição do meio e, por isso, em algumas circunstâncias, melhora ou regula o crescimento da planta *in vitro* (PASQUAL *et al.*, 1997). As concentrações de carvão ativado não influenciaram diretamente na diferença estatística e sim a cultivar BRS

420 que se diferiu da BRS C01 em dois tratamentos, os demais tratamentos não apresentaram diferença estatística em relação a cultivar e dose de carvão ativado.

Para a variável número de explantes oxidado houve interação significativa entre cultivares e concentrações de carvão ativado, onde o melhor resultado é representado pela menor média. As duas cultivares se diferiram em relação a oxidação dos explantes com 1,0 g L⁻¹ de carvão ativado adicionado ao meio de cultura. A cultivar BRS 420 apresentou o maior índice de oxidação dos explantes, quando comparada a outra a cultivar BRS C01, onde houve redução da oxidação com o mesmo tratamento. Vale lembrar que para a variável analisada a menor média representa uma menor perda de explantes, sendo assim a variável BRS 420 não obteve resultados satisfatório com a dose de carvão ativado citado acima.

Para a cultivar BRS C01 não se observou diferença estatística entre as doses de carvão ativado, sendo que as menores médias foram observadas na testemunha e na concentração com 2,0 g L⁻¹. Resultados semelhantes foram obtidos por (MADHUSUDHANAN E RAHIMAN, 2000), que utilizaram diferentes concentrações de carvão ativado para controlar as taxas de oxidação nos explantes de diferentes espécies de *Piper*, mas não houve eficiência da adição de carvão ativado ao meio de cultura utilizado no trabalho. Em contra partida para a variedade BRS 420 houve diferença estatística entre as concentrações de carvão ativado e a testemunha, na ausência de carvão ativado, obteve-se um menor índice de explantes oxidados, quando comparado ao tratamento com 1,0 g L⁻¹ de carvão ativado adicionado ao meio de cultura, onde obteve a maior oxidação dos explantes. Já os resultados dos tratamentos com concentração equivalente a 0,5 g L⁻¹ e 2,0 g L⁻¹ não se diferiram entre si.

Conclusão

A adição do carvão ativado ao meio de cultura MS, não se mostrou satisfatório para o desenvolvimento de explantes de mandioca através da micropropagação *in vitro*. Houve melhor desenvolvimento dos explantes na ausência do carvão ativado para as duas cultivares analisadas.

Referências

- ALVES, A. A. C.; Cassava botany and physiology. In R. J. Hillocks, J. M. Thresh, & A. C. Bellotti. **Cassava: biology, production and utilization** (p. 67-89). Oxon, UK: CABI Publishing, 2002. Recuperado em 13 de março de 2012. http://betuco.be/manioc/Cassava%20-%20Botany%20and%20Physiology%20cabi_08ch5.pdf
- CANÇADO, G. M. A.; RIBEIRO, A. P.; FREITAS, G. F.; SÁ, M. E. L.; SILVA, H. E.; PASQUAL, M.; VAL, A. D. B.; NUNES, C. F.; Cultivo de plantas in vitro e suas aplicações. **Informe agropecuário**, Belo Horizonte, V.30, n. 30, n. 253, p. 64-74, nov/dez. 2009.
- CANDIDO, D. F.; **Cultivo in vitro de peltophorum dubium (sprengel) taubert: multiplicação, senescência foliar e calogênese**. 2013. Dissertação (mestrado) –Universidade Federal de Santa Maria – Centro de ciências rurais, programa pós –graduação em engenharia florestal, Santa Maria.
- CASTRO, J. E. G.; MOREIRA, A. L. M.; Aspectos econômicos e sociais da cadeia produtiva da mandioca no Brasil. **Revista científica FACPED-** Faculdade Pedro Dourad., V.2, p. 23-30 n.2. jan/dez, 2016.
- COSTA, F.H.S.; PEREIRA, J. E. S.; PEREIRA, M. A. A.; OLIVEIRA, J. P.; Efeito da interação entre carvão ativado e n6 -benzilaminopurina na propagação in vitro de bananeira, cv. grand naine (aaa). **Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal** - SP, v. 28, n. 2, p. 280-283, Ago. 2006.
- EMBRAPA, 2016. **Solução tecnológica. Mandioca BRS CS 01**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/3608/mandioca-brs-cs-01>>. Acesso em: 07 out. 2019.
- EMBRAPA, 2019. **Equipe da Embrapa faz ranqueamento dos atributos da mandioca BRS 420**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/43771670/equipe-da-embapa-faz-ranqueamento-dos-atributos-da-mandioca-brs-420>>. Acesso em: 07 out. 2019.
- FAGUNDES, C. M.; MOREIRA, R. M.; RAMM, A.; SCHUCH, M. W.; TOMAZ, Z. F. P.; Carvão ativado no estabelecimento in vitro de cultivares de framboeseira. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.16, n.4, p.406-413, 2017.
- GUERRA, M. P.; NODARI, R. O.; FRAGA, H. P. F.; VIEIRA, L. N.; FRITSCH, Y.; **Biotecnologia I**, Universidade Federal de Santa Catarina. APOSTILA v1, 2016.
- JUNGHANS T. G.; SOUZA, A.S.; Aspectos práticos da micropropagação de plantas. In. SOUZA, A. S.; JUNGHANS, T. G.; SOUZA, F. V. D.; SANTOS SEREJO. J. A.; MENEZES. M. C.; SILVEIRA. D. G.; SANTOS. V.S.; **Micropropagação da mandioca**. 2 ed. Brasília: Embrapa, 2013, p. 345-362.
- GALDINO JÚNIOR, R. F.; MANTOVANI, C.; PIVETTA, K. F.L.; LEMOS, E. G. M.; Crescimento in vitro e aclimatização de *Cattleya loddigesii* Lindley (*Orchidaceae*) com carvão ativado sob dois espectros luminosos. **Ciencias Rural** vol.42 n.5, 2012.

MODESTO JÚNIOR, M. S.; ALVES, R. N. B.; **Cultura da mandioca**: Aspectos socioeconômicos, melhoramento genético, sistemas de cultivo, manejo de pragas e doenças e agroindústria. EMBRAPA. Brasília- DF, 2016.

KERBAUY, G. B.; ESTELITA, M. E. M. Formation of protocorm-like bodies from sliced root apices of *Clowesia warscewiczii*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 8, n. 2, p. 157-159, 1996.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 452 p.

MADHUSUDHANAN, K.; RAHIMAN, B.A. The effect of activated charcoal supplemented media to browning of in vitro cultures of *Piper* species. **Biologia Plantarum**, v.43, p.297-299, 2000.

MOREL, G.; WETMORE, R. H. Tissue culture of monocotyledons. **American Journal of botany**, v 38, p.138-140,1951.

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

PASQUAL, M.; MOREIRA, M. A.; ALVES SOBRINHO, A. dos. Biotecnologia aplicada à produção de mudas de abacaxi. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 19, n. 195, p. 20-23, 1998.

ROGALSKI, M.; GUERRA, M. P.; SILVA, A. L. Multiplicação in vitro da ameixeira ‘Santa Rosa’: efeito da citocinina BAP. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 25, n. 2, p. 365-367, 2003.

SANTOS, V. S.; SOUZA, A. S.; VIANA, A. E. S.; FERREIRA FILHO, J. R.; SOUZA, K. A; MENEZES, M. C.; **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**. Multiplicação rápida, método simples e de baixo custo na produção de material propagativo de mandioca, ed 1. EMBRAPA mandioca e fruticultura. Cruz das almas- BA, 2009.

SANTOS, B. R.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; OLIVEIRA, L. M.; SILVA, D. P. C.; MARTINOTTO, C.; SOARES, F. P.; PAIVA, P. D. O.; Micropropagation of "pequizeiro" (*Caryocar brasiliense* Camb). **Revista Brasileira. Frutic.** v. 28, n.2, 2006.

SILVA, A. B. **Análise mensal-Conab, 2020**. Disponível em: < file:///C:/Users/User/Desktop/MandiocaZ-ZAnaliseZMensalZ-ZMarcoZ-Z2020.pdf > Acesso em: 10 març 2020.

SILVEIRA, D. M. S.; **Multiplicação e conservação in vitro de espécies silvestres de manihot**.2017. Dissertação (mestrado.) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das almas.

STEINMACHER, D. A.; **Germinação in vitro, criopreservação e embriogênese somática em pupunha**. 2015. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

TIRONI, L. F.; UHLMANN L. O.; STRECK, N. A.; SAMBORANHA, F. K.; FREITAS, O. P. C.; SILVA, R. M.; **Desempenho de cultivares de mandioca em ambiente subtropical**. 2015. **Bragantia**, Campinas, v.74, n. 1, p.58-66.

VAN WINKLE, S.; JOHNSON, S.; PULLMAN, G.S. The impact of gelrite and activated carbon on the elemental composition of plant tissue culture media. *Plant Cell Report*, New York, v.21, p.1175-1182, 2003.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; SILVA, F, S.; Micropropagação de híbridos de orquídea em meio knudson com adição de vitaminas do meio ms, benzilaminopurina e carvão ativado. 2014. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**: v. 35, n. 2, p. 683-694.