RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta **Dissertação** será disponibilizado somente a partir de 29/08/2024.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Araraquara

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS

MESTRADO PROFISSIONAL

AVALIAÇÃO DE BIOPRODUTOS E BIOPROCESSO PARA MICROPROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE CÚRCUMA ORNAMENTAL EM SISTEMA DE BIORREATOR DE IMERSÃO TEMPORÁRIA

RAPHAEL ZUCHERATO

ORIENTADOR: Prof. Dr. Levi Pompermayer Machado

COORIENTADOR: Prof. Dr. Marcelo Vieira Ferraz

ARARAQUARA - SP

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

AVALIAÇÃO DE BIOPRODUTOS E BIOPROCESSO PARA MICROPROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE CÚRCUMA ORNAMENTAL EM SISTEMA DE BIORREATOR DE IMERSÃO TEMPORÁRIA

RAPHAEL ZUCHERATO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos (Mestrado Profissional), Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Levi Pompermayer Machado

COORIENTADOR: Prof. Dr. Marcelo Vieira Ferraz

ARARAQUARA – SP

2024

Zucherato, Raphael.
Z94a Avaliação de bioprodutos e bioprocesso para micropropagação *in vitro* de cúrcuma ornamental em sistema de biorreator de imersão temporária / Raphael Zucherato. – Araraquara, 2024.
51 f. : il.

Orientador: Levi Pompermayer Machado.
Coorientador: Marcelo Vieira Ferraz.

Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos. Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos.

1. Biotecnologia. 2. Cultura de tecidos vegetais. 3. Plantas ornamentais. 4. Biorreatores de imersão temporária. 5. Biofertilizantes. I. Machado, Levi Pompermayer, orient. II. Ferraz, Marcelo Vieira, coorient. III. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030170P0
Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Avaliação de bioprodutos e bioprocessos para micropropagação in vitro de Cúrcuma ornamental em sistema de biorreator de imersão temporária.

AUTOR: RAPHAEL ZUCHERATO

ORIENTADOR: LEVI POMPERMAYER MACHADO

COORIENTADOR: MARCELO VIEIRA FERRAZ

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos, área: Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. LEVI POMPERMAYER MACHADO (Participaçao Virtual)
Departamento de Recursos Pesqueiros e Aquicultura / Faculdade de Ciencias Agrarias do Vale do Ribeira do Campus de Registro da Unesp

Profa. Dra. CAMILLY FRATELLI PEREIRA (Participaçao Virtual)
Departamento de Nutrição / Universidade Metropolitana de Santos

Dra. BRUNA ROQUE LOUREIRO (Participaçao Virtual)
Departamento de Recursos Pesqueiros e Aquicultura / Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira-Câmpus Registro

Araraquara, 29 de fevereiro de 2024

A minha família,
JULIANA N. NOLLI
e meu filho BENTO ZUCHERATO,
com muita fé na vida, são meus amores eternos.

"Eu conto os dias conto as horas para te ver não consigo te esquecer,
cada minuto é muito tempo sem você"
Roberto Carlos

AGRADECIMENTOS

A Deus pai todo poderoso criador do céu e da terra, por me conceder o dom da vida, minha saúde, força e vontade de alcançar meus objetivos.

Agradeço aos meus pais Benedito Pascoal Zucherato e Maria Aparecida Castelo Zucherato, que com muito amor e carinho me ensinou que o melhor caminho é o do bem, que a felicidade está na simplicidade, e que na vida o importante é quem você foi, não o que você teve.

Aos meus irmão Daniele Zucherato e Bruno Zucherato, que sempre estiveram perto de mim, nas piores dificuldades, vocês são meu orgulho.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Dr. Levi Pompermayer Machado, principal responsável pela concretização deste trabalho e deste sonho, orientador da maneira mais expressiva que se possa imaginar, técnico, preciso e sempre muito atento aos detalhes, meu muito OBRIGADO.

Ao Dr. Marcelo Vieira Ferraz, por sua coorientação e incentivo e muito conhecimento técnico, sempre esteve à disposição para dúvidas e construção de ideias.

No início é difícil, mas pessoas entram na vida das pessoas por algum motivo, e não posso deixar de agradecer duas pessoas que sempre me deram conselhos e sempre torceram por mim Dona Bete, minha sogra, e seu Vicente *in memoriam* meu sogro, que sempre acreditaram que eu poderia ser uma pessoa melhor, a todas as Nicoletti, tia Fer, Carla, Gabi e Cecilia.

Meu muito obrigado a empresa TERRA VIVA onde trabalho, que me mostra todos os dias que é possível *"Plantar uma vida melhor",* e onde me disponibilizaram estrutura e tempo para realização dos experimentos, meu gerente Joni Theodoro van den Broek e a todos amigos e companheiros que me incentivaram na construção desse projeto.

Agradeço as todas as meninas do laboratório que me ajudaram com muito amor e carinho na execução do experimento, equipe do preparo de meio, Dani e Carol, e as meninas da manipulação e checagem das plantas, Raquel e Fabiana.

A UNESP campus de Araraquara, que deu a oportunidade de absorver muito conhecimento, a todos os professores das disciplinas executadas, a todos alunos que compartilharam ideias e conhecimento.

A todos aqueles que não citei, mas que de alguma forma contribuiu ou me auxiliaram de alguma forma, GRATIDÃO.

RESUMO

No setor de plantas ornamentais a micropropagação *in vitro* é uma ferramenta essencial para produção em escala comercial de mudas de diferentes espécies. Esta técnica envolve bioprocessos desenvolvidos em ambientes controlados, nos quais os tecidos vegetais são manipulados em condições assépticas com o objetivo de multiplicar plantas de interesse comercial. Dessa forma, é possível obter clones que mantenham características desejadas dos cultivares selecionados e valor comercial. Nesse contexto, a presente proposta abordará duas estratégias na produção de micropropagação *in vitro* de Cúrcuma SPLASH®, (*Cúrcuma alismatifolia* – Zingiberaceae). A primeira envolverá a micropropagação convencional utilizando meio de cultura MS sólido, substituindo os macronutrientes por Peters® 0,4 gr/l, adicionado hormônio BAP 0,6 mg/l, suplementando concentrações diferentes de extratos líquidos de macroalgas Acadian® (0,1/0,5/1,0 ml/l), Cia das Algas® (0,1/0,5/1,0 ml/l) e AquaGreen® (0,1/0,5/1,0 ml/l) com hormônio BAP (0,6 mg/l). A segunda proposta é replicar o mesmo tratamento da primeira fase, com a utilização do processo de micropropagação através de biorreatores de imersão temporária utilizando meio de cultura líquido. Com análise dos resultados o trabalho mostra que a substituição dos macronutrientes por fertilizante Peters® 0,4 gr./l é uma alternativa economicamente mais viável em comparação ao uso dos macronutrientes com alto teor de pureza, comparando os métodos de micropropagação *in vitro* de mudas, para ambas as fases, o sistema de biorreator de imersão temporária mostrou mais eficiência em comparação com o método convencional alongamento e enraizamento. A suplementação do meio de cultura com os biofertilizantes, traz benefícios para produção de mudas micropropagadas *in vitro*, AquaGreen® e Cia das Algas® na fase de multiplicação e geração de novos brotos, Acadian para fase de alongamento, AquaGreen® e Cia das Algas® para fase de enraizamento.

Palavras chaves: biotecnologia; cultura de tecidos vegetais; plantas ornamentais; biorreatores de imersão temporária; biofertilizantes

ABSTRACT

In the ornamental plant sector, in vitro micropropagation is an essential tool for commercial-scale production of seedlings of different species. This involves bioprocesses developed in controlled environments, in which plant tissues are manipulated under aseptic technical conditions with the aim of multiplying plants of commercial interest. In this way, it is possible to obtain clones that have desired characteristics of the selected cultivars and commercial value. In this context, the present proposal will address two strategies in the production of in vitro micropropagation of Turmeric SPLASH®, (Cúrcuma alismatifolia – Zingiberaceae). The first will involve conventional micropropagation using solid MS culture medium, incorporating the macronutrients by Peters® 0.4 gr/l, added BAP hormone 0.6 mg/l, supplementing different concentrations of liquid extracts of Acadian® macroalgae (0.1/ 0.5/1.0 ml/l), Cia das Algas® (0.1/0.5/1.0 ml/l) and AquaGreen® (0.1/0.5/1.0 ml/l) with hormone BAP (0.6 mg/l). The second proposal is to replicate the same treatment as the first phase, using the micropropagation process through temporary transfer bioreactors using liquid culture medium. Analysis of the results of the work shows that replacing macronutrients with Peters® 0.4 gr./l fertilizer is a more economically viable alternative compared to the use of macronutrients with a high purity content, comparing in vitro seedling micropropagation methods, for both phases the experimental bioreactor system showed more efficiency compared to the conventional stretching and rooting method. Supplementing the culture medium with biofertilizers brings benefits to produce in vitro micro propagated seedlings, AquaGreen® and Cia das Algas® in the multiplication phase and generation of new shoots, Acadian® for the elongation phase, AquaGreen® and Cia das Algas® for the rooting phase.

Keywords: biotechnology; plant tissue culture; ornamental plants; temporary immersion bioreactors; biofertilizer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Exsicata de Cúrcuma Longa L. 11
Figura 2 - Flor de Cúrcuma Ornamental 12
Figura 3 - Desenho esquemático da micropropagação vegetal in vitro 14
Figura 5 - A) Plantas Normais in vitro B) Plantas com Hiperidricidade in vitro 19
Figura 6 - Exemplos de culturas micropropagadas in vitro em biorreator de imersão temporária 20
Figura 7 - Desenho esquemático do sistema de biorreator de imersão temporária 21
Figura 8 - Etapas do protocolo TV CMA - 001.2020 para obtenção de explantes in vitro 23
Figura 9 - Equipamentos utilizados no laboratório para produção de meio de cultura 26
Figura 10 - Tampa de plástico autoclavável e garrafa com as conexões do sistema de biorreator de imersão temporária 29
Figura 11 - Sistema completo do biorreator de imersão temporária, compressor, secador, regulagem de pressão e as prateleiras com as garrafas acopladas 29
Figura 12 - Cúrcuma Ornamental Splash® na garrafa estéril conectada ao sistema de biorreator de imersão temporária 30
Figura 13 - Imagem da tabela quadriculada utilizada para coleta de resultado 31
Figura 14 - Mudas de Cúrcuma in vitro após 42 dias (6 semanas) na sala de crescimento 32
Figura 15 - Média dos números de novos brotos do método convencional de micropropagação 33
Figura 16 - A) Plantas in vitro testemunha e B) Plantas in vitro T 07 – AquaGreen® 0,1 mg/l . 34
Figura 17 - Resultado do método convencional de micropropagação altura das plantas (cm) 34
Figura 18 - Resultados do método convencional quantidade de raiz (número) 35
Figura 19 - Resultado do método biorreator de imersão temporária fator de propagação (número) 36
Figura 20 - a) T 04 0,1 mg/l Cia Algas b)T 05 0,5 mg/l c) T 06 1,0 mg/l Cia Algas 37
Figura 21 - Resultados do método biorreatores de imersão temporária de micropropagação altura das plantas (cm) 37

Figura 22 - Resultados do método biorreatores de imersão temporária quantidade de raiz (número) 38
Figura 23 - Valores de produção de meio de cultura 43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Meio de cultura da 1 e 2° etapa do experimento 22
Tabela 2 - Solução estoque do meio de cultura MS Murashige & Skoog 24
Tabela 3 - Tratamentos compostos por extratos biofertilizantes aplicados nas concentrações finais no meio solido em mg/l 27
Tabela 4 - Tratamentos compostos por extratos biofertilizantes aplicados nas concentrações finais no meio de cultura liquido em mg/l 28
Tabela 5 - Valor dos itens para produção de Meio de Cultura - 1 litro 42

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 8

2. OBJETIVOS 10

3. REVISÃO DE LITERATURA 11

3.1. BOTÂNICA DA CÚRCUMA 11

3.2. CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS 13

3.3. MEIO DE CULTURA E EXTRATOS FERTILIZANTES 15

3.4. BIOFERTILIZANTES EXTRAIDOS DAS ALGAS MARINHAS 17

3.5. BIORREATORES DE IMERSSÃO TEMPORÁRIA 18

4. MATERIAL E MÉTODOS 22

4.1. OBTENÇÃO DE EXPLANTES 23

4.2. PRODUÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA 23

4.3. EFEITO DE EXTRATOS BIOFERTILIZANTES NO MÉTODO DE PROPAGAÇÃO EM MEIO SÓLIDO 26

4.4. ANÁLISE DOS DADOS 30

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 32

5.1. RESULTADOS DO SISTEMA CONVENCIONAL DE MICROPROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE CURCUMA SPLASH 32

5.2. RESULTADOS DO SISTEMA DE BIORREATORES DE IMERSSÃO TEMPORÁRIA DE MICROPROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE CÚRCUMA SPLASH 36

5.3 RESULTADO DO CUSTO DE PRODUÇÃO DE MEIO DE CULTURA 42

6. CONCLUSÃO 44

8. REFERÊNCIA 45

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a profissionalização e o dinamismo comercial da floricultura são fenômenos relativamente recentes. No entanto, a atividade já contabiliza números extremamente significativos. Nos últimos cinco anos, o crescimento do setor ornamental vem se destacando, considerando que a verba de marketing e propaganda tem sido muito baixa e é nula quando se trata de promover o setor como um todo. De acordo com dados da Ibraflor (2015), o Brasil produz 15.600 hectares de flores, o que representa 8% da produção mundial e conta, atualmente, com cerca de 8 mil produtores de flores e plantas. Juntos, eles cultivam mais de 2.500 espécies com cerca de 17.500 variedades. Sendo assim, o mercado de flores é uma importante engrenagem na economia brasileira, responsável por 209.000 empregos diretos, dos quais 81.000 relativos à produção, 9.000 à distribuição, 112.000 no varejo e 7.000 em outras funções, em maior parte como apoio.

O setor de plantas ornamentais dentre os segmentos produtivos do agronegócio no país, tem por característica sua diversificação em produtos. De acordo com Oliveira et al. (2021), a cadeia de flores e plantas ornamentais também é extremamente dinâmica, o que requer constantemente ações de inovações em produtos e serviços para melhor atender a demanda do mercado por novidades, qualidade e preços competitivos.

De acordo com o Ibraflor (2015), as flores movimentaram 10,9 bilhões de reais no Brasil. Esse desenvolvimento está fundamentado na qualidade da produção e na mudança de hábito da população, que tem hoje produtos com beleza e vida útil, correspondente ao valor gasto, houve uma evolução no padrão de exigência do consumidor final, fazendo que os produtores busquem cada vez mais, melhorias no processo de produção de mudas.

Nesse contexto de expansão do setor, merece destaque a promulgação de uma Lei Federal que estabelece a Política Nacional de Incentivo à Cultura de Flores e de Plantas Ornamentais de Qualidade. Essa medida promete impulsionar o setor produtivo, proporcionando linhas de crédito específicas, implementando práticas fitossanitárias para elevar a excelência na produção de flores,

fortalecendo as estruturas para a comercialização nos mercados interno e externo, conforme delineado pela Lei 14.637, de 2023.

O mercado de flores no mundo, assim como no Brasil, utiliza-se das novidades, isto é, da introdução de novas cultivares, para manter e estimular o interesse dos consumidores nos produtos. Nesta questão, as principais necessidades do mercado de flores são cultivares mais adequado ao cultivo intenso, de baixo custo e de fácil cultivo, além de aprimoramentos nas técnicas de cultivo *in vitro*, que permite a produção em larga escala, controlando todos os fatores bióticos e abióticos.

A micropropagação é uma das principais aplicações da cultura de tecidos vegetais (Barbosa et al., 1993) com o objetivo principal de reproduzir plantas idênticas às plantas matrizes, essa técnica é baseada na totipotência de uma única célula vegetal, a capacidade por si só, originar uma nova planta, com as mesmas características genéticas, clonagem de plantas (Pinto, 2001).

A cultura de tecidos vegetais se configura como uma ferramenta essencial para micropropagação em grande quantidade das principais espécies ornamentais. Em decorrência, diversas formulações químicas e substâncias complexas tem sido explorado, como componente dos meios nutritivos a fim de reduzir o tempo de cultivo *in vitro* e ampliar a qualidade de plantas produzidas (Arditti; Ernst, 1984).

Meios nutritivos simplificados representam aqueles formulados a partir de materiais corriqueiros e de baixo custo, como por exemplo, o uso de fertilizantes comerciais, polpa de frutas, biofertilizantes entre outros produtos quando comparado as formulações estabelecidas por químicos com alto teor de pureza.

6. CONCLUSÃO

O presente trabalho conclui através dos resultados coletados que a substituição dos macronutrientes por fertilizante Peters® 0,4 gr./l demonstrou como uma alternativa economicamente mais viável em comparação ao uso dos macronutrientes P.A.

Em comparação dos métodos de micropropagação *in vitro* de mudas, para ambas as fases o sistema de biorreator de imersão temporária mostrou mais eficiência em comparação com o método convencional nas fases de multiplicação, alongamento e enraizamento.

De acordo com os dados estatísticos, a suplementação do meio de cultura com os biofertilizantes, traz benefícios para produção de mudas micropropagadas *in vitro* na fase de multiplicação o Acadian® e Cia das Algas® melhoram o fator de propagação, no alongamento Acadian®, Cia Algas® e AquaGreen® ajudam no desenvolvimento e crescimento dos explantes e no enraizamento Acadian®, Cia Algas® e AquaGreen® aumentam o número de raízes, a escolha do biofertilizante e suas concentrações depende do processo escolhido entre método convencional ou biorreator de imersão temporária.

Consequentemente essa otimização das fases micropropagadas *in vitro* através da substituição dos macronutrientes por fertilizante comercial Peters®, suplementado com os biofertilizantes e uso de sistema de biorreatores de imersão temporária foram importantes para a diminuição dos custos de produção de meio de cultura.

Todas as plantas micropropagadas deste experimento, tanto do método convencional quanto de biorreator de imersão temporária foram plantadas em estufa de aclimatização para verificação de variação somaclonal, e nenhuma das plantas houve algum tipo de anomalia e 100% de ambos os teste e testemunhas sobreviveram após aclimatação nas estufas.

8. REFERÊNCIA

ALVARD, D.; COTE, F.; TEISSON, C. Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation. **Plant cell, Tissue and Organ Culture**, v. 32, p.55-60, 1993. DOI: 10.1007/BF00040116

ARDITTI, J.; ERNST, R. 1984 Physiology of Germinating Orchids Seeds. In: Arditti, J., Ed., Orchidbiology, Reviews and Perspectives III, Cornell University Press, Ithaca. 177-222

BALTAZAR, M.; CORREIA, S.; GUINAN, K.J; SUJEETH, N.; BRAGANÇA, R.; GOLÇALVES, B.; Recent Advances in the Molecular Effects of Biostimulants in Plants: an Overview. **Biomolecules**, v. 11, n. 8, p. 1096, 2021. DOI: 10.3390/biom11081096

BIASI, L.A. Reguladores de crescimento vegetal. *In*: WACHOWICZ, C.M.; CARVALHO, RI.N. (ed.). **Fisiologia vegetal**: produção e pós-colheita. Curitiba: Editora Champagnat, 2002. p. 63-94.

BARBOSA, M.H. P.; PASQUAL, M., J. E. B. P.; ARELLO, E. F.; I. Efeitos da Benzilaminopurina e ácido índole-3-acético sobre a propagação in vitro de Gérbera jamesonii Bolu sex Hook cv. Applebloesem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 15-19, 1993.

BELTRÃO, J.; TRINDADE, D.; CORREA, P.J. Lettuce yeld response to salinity of sprinkle irrigation water. **Acta Horticulturae**, v. 449, p. 623-627, 1997. DOI: 10.17660/ActaHortic.1997.449.86

CECÍLIO FILHO, A.B.; SOUZA, R.J.; BRAZ, L.T.; TAVARES, M. Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. **Ciência Rural,** v. 30, n. 1, p. 171-175, 2000. DOI: 10.1590/S0103-84782000000100028

CRAIG, J.S.; MACKINNON, S.L.; WALTER, J.A. Liquid seaweed extract identified using 1 H NMR profiles. **Journal of Applied Phycology**, Heidelberg, v. 20, p. 665-671, 2007.

COLAPIETRA, M.; ALEXANDER, A. Effect of foliar fertilization on yeld and quality of table grapes. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 721, p. 213-218, 2006.

DAVIS, P.L. **Plant hormones**: physiology, biochemistry and molecular biology. 2nd. ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995. 833 p.

DEBERGH, P. Physical properties of culture media. In: **Plant tissue culture 1982:** proceedings, 5th International Congress of Plant Tissue and Cell Culture held at Tokyo and Lake Yamanake, Japan, July 11-16, 1982/edited by Akio Fujiwara. 1982.

DONALISIO, M.G. Instruções para o cultivo de cúrcuma. **Agronômico** v. 32, p. 171-175, 1980.

ESCALONA, M.; LORENZO, J. C.; GONZALEZ, B.; DAQUINHA, M.; GONZALEZ, J. L.; DESJARDINS, Y.; BORROTO, C. G. Pineapple (Ananas comosus L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems. **Plant cell Reports**, v. 18, p. 743-748, 1999. DOI: 10.1007/s002990050653

FAVETTA, V.; COLOMBO, R. C.; FARIA, R. T. Cultivo *in vitro* de *Vanda tricolor* Lindl. em meios de cultura simplificados. **Revista de Ciência Agrária,** Belém, v. 57, n. 2, p. 114-117, 2014. DOI: 10.4322/rca.2014.003

FERIA, M.; JIMÉNEZ, E.; CHÁVEZ, M. Influência de las densidad de inóculo y la frecuencia de renovación del medio de cultivo em la propagacion *in vitro* de la caña de azúcar (*Saccharum spp. Híbrido*) utilizando sistemas de inmersión temporal. *In:* ENCUENTRO LATINOAMERICANO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 3., 1998, Cuba. **Anais** [...]. Cuba: [*s.n.*], 1998. 112 p.

GAMBORG, O.L.; MILLER, R.A.; OJIMA, K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Experimental Cell Research, v. 50, p. 151-158, 1968. DOI:10.1016/0014-4827(68)90403-5

GALDIANO JUNIOR, R.F.; MANTOVANI, C.; LEMOS, E. G. M. Propagação *in vitro* de *Cattleya trianaei* (Linden & Reichenbach fil.) (Orchidaceae) em meios de culturas e com doses de fertilizante comercial. **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, v. 3, n. 3, p. 210-214, 2012.

GOLDWYN, Lisa Ann. **Methods of micropropagation of Sequoia sempervirens' Aptos Blue'**. California State University, Fresno, 1997.

GOULD, J.M.; BANISTER; S.; HASEGAWA. ; FAHIMA, M.; SMITH, R.H. Regeneration of Gossypium hirsutum and G. barbadense shoot apex tissue for transformation. **Plant Cell Reports**, v. 10, p. 12-16, 1991. DOI: 10.1007/BF00233024

GOVINDARAJAN, V.S. Turmeric: chemistry, technology and quality. **CRC: Critical Review in Food Science and Nutrition,** v. 12, n. 3, p. 199 – 301, 1980. DOI: 10.1080/10408398009527278

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. *In*: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI, Embrapa- CNPH, 1998. v. 1, p. 183-242.

HERTWIG, IGOR FRANCISCO VON HERTWIG. **Plantas aromáticas e medicinais: plantio, colheita, secagem, comercialização**. Icone, 1986.

HESS, Dieter. **Plant physiology: molecular, biochemical, and physiological fundamentals of metabolism and development**. Springer Science & Business Media, 2012.

IBRAFLOR. Mapeamento e quantificação da cadeia de flores e plantas ornamentais do Brasil. São Paulo: IBRAFLOR, 2015.

KHARRAZI, Mahdiyeh et al. Factors Affecting Plant Tissue Hyperhydricity at in vitro Culture and Strategies to Resolve it Case Study:(Dianthus caryophyllus L.). Flower and Ornamental Plants, v. 1, n. 2, p. 85-95, 2017.

KHAN, W.; RAYIRATH, U.P.; SUBRAMANIAN, S.; JITHESH, M.N.; RAYORATH, P.; HODGES, D.M.; CRITCHLEY, A.T.; CRAIG, J.S.; NORRIE, J.; PRITHIVIRAJ, B. Seaweed extract as biostimulants of plant growth and development. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 28, p. 386-399, 2009. DOI: 10.1007/s00344-009-9103-x

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

KESER, M.; SWENARTON, J.T.; FOERTCH, J.F. Effects of thermal input and climate change on growth of Ascophyllum nodosum (Fucales, Phaeophyta) in Eastern Long Island Sound (USA). **Journal of Sea Research**, Amsterdam, v. 54, p. 211-220, 2005. DOI: 10.1016/j.seares.2005.05.001

LYAM, P.T.; MUSA, M.; JAMALEDDINE, Z.O.; OKERE, U.A.; ODOFIN, W.T. (2012). The potential of Temporary Immersion Biorreactors (TIBs) in meeting crop production demand in Nigeria. **Journal of Biology and Life Science**, v. 3. n. 1, p. 66-86, 2012. DOI: 10.5296/jbls.v3i1.1156

LEMOS, E.E.P. **Experimentos em micropropagação e organogênese na graviola (*A. muricata* L.)**. Maceio: EDUFAL, 1996. 43p.

LEVIN, R; GABA, V.; TAL, B; HIRSCH, S; DE NOLA, D.; VASIL, I.K. Automated plant tissue culture for mass propagation. **Bio/Technology**, v. 6, p. 1035-1040, 1988. DOI: 10.1038/nbt0988-1035

LLOYD, G.; McCOWN B. Commercially - feasible micropropagation of mountain laurel, Kalmia latifólia by use of shoot - tip culture. **Combined Proceedings of International Plant Propagators Society**, Seattle, v. 30, p. 421-427, 1981.

LOVATO, P. E.; GIANINAZZI, S.; TROUVELET, A., & GIANINAZZI - Pearson, V. (1996). The state of art of mycorrhizas and micropropagation.

MAIA, N.B. **A cúrcuma como corante**. *In*: SEMINÁRIO DE CORANTES NATURAIS, 2., Campinas, 1991. Campinas: ITAL, 1991. p. 65.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira para a Pesquisa de Potassa e fosfato, 1997. 319 p.

MANTOVANI, N.C.; FRANCO, E.T.H. Cultura de tecidos de plantas lenhosas. Santa Maria: UFSM, CEPEF, FATEC, 1998, 22p.

MACKINNON, S.L.; HILTZ, D.; UGARTE, R.; CRAFT, C.A. Improved methods of analysis for betaines in Ascophyllum nodosum and its commercial seaweed extract. **Journal of Applied Phycology**, Heidelberg, v. 22, p. 489-494, 2010. DOI: 10.1007/s10811-009-9483-0

MELLO, M.O.; AMARAL, A.F.C.; MELO, M. Quantificação da micropropagação de *Cúrcuma zerdoária* Roscoe. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 4, p. 703-707, 2000. DOI: 10.1590/S0103-90162000000400016

MONTARROYOS, A.V.V. Contaminação in vitro. **ABCTP Noticas**, Brasília, DF, n. 36, p.5-10, 2000.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

MURCH, S.J.; LIU, C.; ROMERO, R.M.; SAXENA, P.K. In vitro culture and temporary immersion bioreactor production of Crescentia cujete. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 78, p. 63-68, 2004.

OLIVEIRA, B.C.; NASCIMENTO, R.N.; SILVA, G.R.S.; LOPES, C.L. Revista Livre De Sustentabilidade e Empreendorismo, v.6, n.2, p. 180-200, mar-abr, 2021.

PÉRET-ALMEIDA L**. A influência da radiação gama na inibição do brotamento do rizoma e na qualidade da cúrcuma em pó.** 2000. 60 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia da UFMG, Belo horizonte, 2000.

PLETSCH, M. Compostos naturais biologicamente ativos. **A aplicação da biotecnologia à produção de compostos naturais biologicamente ativos. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 1, n. 4, p. 12-5, 1998.

PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V. **Textos acadêmicos**: cultivo e processamento de plantas medicinais. Lavras: FAEPE/UFLA. 2001. 169 p.

PREIL, W.; FLORECK, P; WIX, U.; BECK, A. Towards mass propagation by use of biorreactors. **Acta Horticulturae**, v. 226, p. 99-105, 1988. DOI: 10.17660/ActaHortic.1988.226.9

REFLORA. **Curcuma longa L**. 2015. Disponível em: https://reflora.jbrj.gov.br/reflora/geral/ExibeFiguraFSIUC/ExibeFiguraFSIUC.do?idFigura=227032087. Acesso em: 22 dezembro 2023

SAEQER, J.; PRAET, S.V.; VEREECKE, D.; PARK, J.; JACQUES, S.; HAN, T.; DEPUYDT, S. Toward the molecular understanding of the action mechanism of Ascophyllum nodosum extracts on plants. **Journal of Applied Psychology**, New York, v. 32, n. 1. p. 573–597, 2020. DOI: 10.1007/s10811-019-01903-9

SHUKLA, P.S; MANTIN, E.G; ADIL, M; BAIPAI, S.; CRITCHLEY, A.T.; PRITHIVIRAI, B. *Ascophyllum nodosum*-based biostimulants: sustainable applications in agriculture for the stimulation of plant growth, stress tolerance, and disease management. **Front. Plant Sci.,** v. 10, 655, 2019. DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00655.

SCARTEZZINI, P.; SPERONI, E. Review on some plants of indian traditional medicinal medicine with antioxidants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 17, p. 23-43, 2000. TAINTER, D.R.; GRENIS, A.T. **Especias y aromatizantes alimentarios**. Zaragoza: Ed. Acríbia, 1996. 251 p. DOI: 10.1016/S0378-8741(00)00213-0

REFLORA. **Curcuma longa L**. 2015. Disponível em: https://reflora.jbrj.gov.br/reflora/geral/ExibeFiguraFSIUC/ExibeFiguraFSIUC.do?idFigura=227032087. Acesso em: 22 dezembro 2023

TERRA VIVA. CURCUMA SPLASH®, 2023. Disponível em: https://www.terraviva.agr.br/curcuma. Acesso em: 09 novembro 2023

TAKAYAMA, S; ARIMA, Y.; AKITA, M. Mass propagation of plants by fermenter culture techniques. In: **Abst. 6th International Congress of Plant Tissue and Cell Culture, Int. Assoc. Plant Tissue Cult. University of Minnesota**. 1986. p. 449.

TORRES, A.C; CALDAS, L. S. BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: EMBRAPA Produção de Informação, Centro Brasileiro Argentino de Biotecnologia, 1998. v. 2, p. 183-260.

TORRES, A.C. BARBOSA, N. V. DOS E.; WILLADINO, L.; GUERRA, M.P.; FERREIRA, C. F.; PAIVA, S. A. V. **Meio e condições de incubação para a cultura de tecidos de plantas**. Brasília, 2001. 20 p. (Circular Técnica, 24).

UGARTE, R.A.; SHARP, G.; MOORE, B. Change in the brown seaweed Acophyllum nodosum (L.) Le Jol. Plant morphoçogy and biomass produced by cutter rake harvests in Southern New Brunswick, Canada. **Journal of Applied Phycology**, Heidelberg, v. 18, p. 351-359, 2006.

UNEMOTO, L.K.; FARIA, R.T.; VIEIRA, A.O.S.; DALIO, R.J.D. Propagação *in vitro* de orquídeas brasileiras em meio de cultura simplificado. **Revista Brasileira de Agrociências,** Pelotas, v. 13, n. 2, p. 267-269, 2007.

ZIV, M. Bioreactor technology for plant micropropagation. **Horticultural Reviews**, v. 24, p. 1-30, 2000.

YEPES, L.M.; ALDWINCKLE, H.S. Micropropagation of thirteen Malus cultivars and rootstocks, and effect of antibiotics on proliferation. **Plant Growth Regulation**, v. 15, p. 55-67, 1994. DOI: 10.1007/BF00024677