



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL**

**CAMPUS DE LARANJEIRAS DO SUL**

**CURSO DE AGRONOMIA**

**LINHA DE FORMAÇÃO EM AGROECOLOGIA**

**JACQUELINI ROMERO PEREIRA**

**INTRODUÇÃO *IN VITRO* DE SEGMENTOS NODAIS DE *Guadua angustifolia* Kunt.**

**LARANJEIRAS DO SUL**

**2018**

**JACQUELINI ROMERO PEREIRA**

**INTRODUÇÃO *IN VITRO* DE SEGMENTOS NODAIS DE *Guadua angustifolia Kunt.***

Trabalho de conclusão do curso apresentado ao curso de Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito para obtenção do título de Engenheira Agrônoma.

Orientador: Prof. Dr. Roberson Dibax

**LARANJEIRAS DO SUL**

**2018**

**PROGRAD/DBIB - Divisão de Bibliotecas**

Pereira, Jacqueline Romero

INTRODUÇÃO IN VITRO DE SEGMENTOS NODAIS DE *Guadua angustifolia* Kunt./ Jacqueline Romero Pereira. -- 2018.  
41 f.:il.

Orientador: Roberson Dibax.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) -  
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de  
Agronomia , Laranjeiras do Sul, PR, 2018.

1. micropropagação. 2. in vitro. 3. *Guadua angustifolia* Kunt.. 4. assepsia. I. Dibax, Roberson, orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

**JACQUELINI ROMERO PEREIRA**

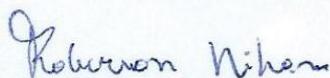
**INTRODUÇÃO *IN VITRO* DE SEGMENTOS NODAIS DE *Guadua angustifolia* Kunt.**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia com Ênfase em Agroecologia da Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Laranjeiras do Sul (PR).

Orientador: Professor Dr. Roberson Dibax

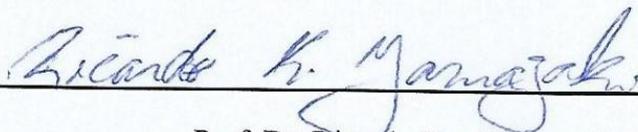
Este trabalho de conclusão de curso foi apresentado e aprovado pela banca em: 27/06/2018

BANCA EXAMINADORA



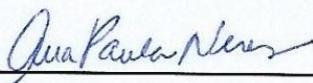
---

Prof. Dr. Roberson Dibax - UFFS



---

Prof. Dr. Ricardo Key Yamazaki - UFFS



---

Mestranda Ana Paula Neves – UNICENTRO

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, à Deus e aos bons espíritos pela vida.

Aos meus pais João Arami Pereira e Elisiane Romero, por todo o apoio ao longo destes anos de curso, exemplos de esforço e trabalho.

Aos meus avós Aracy e Moacir Romero pelos princípios que me ensinaram, pelos exemplos de bondade, esforço e trabalho.

Aos meus avós Anita e Délcio Pereira por serem exemplos de força, esforço e trabalho.

Aos meus irmãos, Belini, Priscila, Kawan, Thales Enzo e Eduardo Moacir, que são meus fiéis escudeiros, principalmente minha irmã Patrícia Pereira pelo apoio e amor incondicional ao longo da vida e dessa trajetória. Ao meu cunhado Guilherme pelas horas de conversas e apoios.

Aos meus sobrinhos amados, que me foram companheiros nas mais complicadas horas, Gabriel, Giovana e Melissa. Aos demais familiares que torceram por mim.

Ao professor Roberson Dibax pelas oportunidades, pela disposição a responder as perguntas mais simples e as mais complexas, ensinamentos, horas de ombro amigo e tempo dedicado a me ajudar.

A UFFS pelos professores e funcionários que foram alicerces para a minha formação.

Aos amigos e colegas que fiz durante o curso.

Ao Professor Luiz Antonio Biasi do departamento do Fitotecnia e Fitossanitarismo e a professora Marguerite Quoirin, do departamento de Botânica, pela acolhida no laboratório de Micropropagação Vegetal da instituição Universidade Federal do Paraná.

Ao Laboratório de Micropropagação de Plantas do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da UFPR.

À Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia Doutoranda Ana Paula de Azevedo pelos conhecimentos passados, a paciência em ensinar, e o tempo dedicado a me ajudar.

A vaidade e o orgulho são coisas diferentes, embora as palavras sejam frequentemente usadas como sinônimos. Uma pessoa pode ser orgulhosa sem ser vaidosa. O orgulho relaciona-se mais com a opinião que temos de nós mesmos, e a vaidade, com o que desejaríamos que os outros pensassem de nós.

Jane Austen

## RESUMO GERAL

A espécie de bambu *Guadua angustifolia* Kunt possui matéria prima com alto potencial econômico, mas ainda é subutilizada. Além disso existe complicações na reprodução vegetativa por separação de rizomas, touceiras e caules, que tem como ponto negativo a destruição de uma planta para fazer um novo cultivo. O objetivo deste estudo foi o estabelecimento de um protocolo de introdução *in vitro* de *Guadua angustifolia* Kunt, utilizados os seguintes tratamentos de assepsia: 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em NaOCl 2 % com 2 gotas de Tween<sup>®</sup> 80; 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em HgCl<sub>2</sub> 0,1; 30 segundos no álcool 70% + 30 minutos de imersão em 8 ml/L de PPM<sup>®</sup>; 30 segundos no álcool 70% + 15 minutos em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % e 24 horas em Cercobim<sup>®</sup> 2g/L + 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em NaOCl 2 % com 2 gotas de Tween<sup>®</sup> 80 em meio MS, foi mantido em câmara de crescimento com fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25°C. Após 14 dias foram avaliadas as variáveis contaminação de explantes, assepsia e existência de brotações. Ocorreram contaminações em todos os tratamentos, sendo o tratamento com HgCl<sub>2</sub> o com menor contaminação de explantes e maior taxa de explantes assépticos. Ainda os tratamentos com HgCl<sub>2</sub> e Cercobin<sup>®</sup> foram os que se destacaram na variável brotações. Porém, em ambos ocorreu oxidação de explantes. Entretanto isso não prejudicaria a produção massal de mudas clonais com as brotações obtidas. Palavras-chave: Micropropagação, Propagação *in vitro*, Bambu, Desinfestação, *Guadua angustifolia* Kunt.

## LISTA DE GRÁFICO

Gráfico 1– Comparação de porcentagens, por média simples, de contaminação por fungos em todos os tratamentos .....	28
Gráfico 2 – Comparação das porcentagens, por média simples, da quantificação de explantes sem contaminação.....	29
Gráfico 3 – Comparação das porcentagens, por média simples, da quantificação de explantes com brotações. ....	30

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Explantes do tratamento 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em NaOCl 2 % com 2 gotas de Tween<sup>®</sup> 80 inoculados por 14 dias em meio MS, explantes 1 e 2 contaminados por fungos e explante 3 por bactéria, tratamento não obteve explantes sem contaminação. ...31
- Figura 2 – Explantes do tratamento 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em HgCl<sub>2</sub> 0,1 inoculados por 14 dias em meio MS, (A) explantes sem contaminação, mas com oxidação; (B) explantes com contaminação por fungos e bactérias, nesta ordem, oxidação e morte de explantes; (C) contaminação bacteriana, oxidação de explantes..... 32
- Figura 3 – Explantes do tratamento 30 segundos no álcool 70% + 30 minutos de imersão em 8 ml/L de PPM<sup>®</sup> inoculados por 14 dias em meio MS, contaminados por fungos e por bactérias, explantes oxidados..... 33
- Figura 4 – Explantes do tratamento 30 segundos no álcool 70% + 15 minutos em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % inoculados por 14 dias em meio MS, (A) explantes contaminados por fungos (2 primeiros tubos da esquerda), e explante contaminado por bactéria (tubo da direita); (B) Único explante sem contaminação, porém oxidado e morto ..... 34
- Figura 5 – Explantes do tratamento, 24 horas em Cercobim<sup>®</sup> 2g/L + 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em NaOCl 2 % com 2 gotas de Tween<sup>®</sup> 80 inoculados por 14 dias em meio MS, (A) contaminação por bactéria; (B) contaminação por fungos..... 35

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Comparação de médias por Tukey\* para as variáveis, contaminação por fungos, explantes sem contaminação e número de explantes com brotações. Avaliados após os tratamentos de assepsia 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em NaOCl 2 % com 2 gotas de Tween<sup>®</sup> 80; 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em HgCl<sub>2</sub> 0,1; 30 segundos no álcool 70% + 30 minutos de imersão em 8 ml/L de PPM<sup>®</sup>; 30 segundos no álcool 70% + 15 minutos em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % e 24 horas em Cercobim<sup>®</sup> 2g/L + 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em NaOCl 2 % com 2 gotas de Tween<sup>®</sup> 80 em meio MS por 14 dias. ....27

## **LISTA DE SIGLAS**

UFFS	Universidade Federal da Fronteira Sul
UFPR	Universidade Federal do Paraná
BAP	6-benzilaminopurina
PPM	Plant Mixture Preservative
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
ANOVA	Análise de Variância
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina

## LISTA DE SIMBOLOS

CO <sub>2</sub>	Gás carbônico
NaOCl	Hipoclorito de sódio
mm	Milímetro
cm	Centímetros
L	Litros
HgCl <sub>2</sub>	Cloreto de mercúrio
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de Hidrogênio
°C	Graus Celsius
®	Marca Registrada
%	Porcentagem
g	Gramas
mL	Mililitros
μM	Micromol

## SUMÁRIO

RESUMO .....	14
ABSTRACT .....	15
INTRODUÇÃO .....	15
MATERIAL E MÉTODOS.....	17
<i>Introdução in vitro de Guadua angustifolia</i> .....	17
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	19
CONCLUSÕES .....	23
REFERÊNCIAS .....	23
ANEXO 1 – TABELAS, GRÁFICOS E FIGURAS.....	27

1 **Introdução *in vitro* de segmentos nodais de *Guadua angustifolia* Kunt.**

2 ***In vitro* introduction of nodal segments of *Guadua angustifolia* Kunt.**

3  
4 **Jacqueline Romero Pereira<sup>I</sup>Roberson Dibax<sup>I</sup>Ana Paula de Azevedo<sup>II</sup>Luiz Antonio Biasi<sup>II</sup>**

5  
6 **RESUMO**

7 A espécie de bambu *Guadua angustifolia* Kunt possui matéria prima com alto potencial  
8 econômico, mas ainda é subutilizada. Além disso existe complicações na reprodução vegetativa  
9 por separação de rizomas, touceiras e caules, que tem como ponto negativo a destruição de uma  
10 planta para fazer um novo cultivo. O objetivo deste estudo foi o estabelecimento de um  
11 protocolo de introdução *in vitro* de *Guadua angustifolia* Kunt, utilizados os seguintes  
12 tratamentos de assepsia: 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em NaOCl 2 % com 2 gotas  
13 de Tween® 80; 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em HgCl<sub>2</sub> 0,1; 30 segundos no álcool  
14 70% + 30 minutos de imersão em 8 ml/L de PPM®; 30 segundos no álcool 70% + 15 minutos  
15 em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % e 24 horas em Cercobim® 2g/L + 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em  
16 NaOCl 2 % com 2 gotas de Tween® 80 em meio MS, foi mantido em câmara de crescimento  
17 com fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25°C. . Após 14 dias foram avaliadas as variáveis  
18 contaminação de explantes, assepsia e existência de brotações. Ocorreram contaminações em  
19 todos os tratamentos, sendo o tratamento com HgCl<sub>2</sub> o com menor contaminação de explantes  
20 e maior taxa de explantes assépticos. Ainda os tratamentos com HgCl<sub>2</sub> e Cercobin® foram os  
21 que se destacaram na variável brotações. Porém, em ambos ocorreu oxidação de explantes.  
22 Entretanto isso não prejudicaria a produção massal de mudas clonais com as brotações obtidas.

---

<sup>I</sup> Universidade Federal da Fronteira Sul – Laranjeiras do Sul, PR. E-mail: jacque\_knoas@hotmail.com Autor para correspondência

<sup>II</sup> Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da Universidade Federal do Paraná.

1 **Palavras-chave:** micropropagação, propagação in vitro, bambu, desinfestação, *Guadua*  
2 *angustifolia* Kunt.

3

#### 4 **ABSTRACT**

5 The species *Guadua angustifolia* Kunt has raw material with high economic potential, but is  
6 still underutilized. The objective of this study was to establish a protocol for in vitro  
7 introduction *Guadua angustifolia* Kunt, aseptic utilized the next treatments: 30 seconds in 70%  
8 ethanol + 10 minutes in 2% NaOCl with 2 drops of Tween® 80; 30 seconds in alcohol 70% +  
9 10 minutes in 0.1 HgCl<sub>2</sub>; 30 seconds in alcohol 70% + 30 minutes of immersion in 8 ml / l of  
10 PPM®; 30 seconds in alcohol 70% + 15 minutes in 10% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 24 hours in Cercobim® 2g  
11 / l + 30 seconds in 70% alcohol + 10 minutes in 2% NaOCl with 2 drops of Tween® 80 in MS  
12 medium was kept in chamber of growth with photoperiod of 16 hours and temperature of 25 °  
13 C. After 14 days the variables explants contamination, asepsis and sprouting were evaluated.  
14 Contamination occurred in all treatments, being the treatment with HgCl<sub>2</sub> the lowest  
15 contamination of explants and higher rate of aseptic explants. Still the treatments with HgCl<sub>2</sub>  
16 and Cercobim® were those that stood out in the sprouts variable. However, oxidation of explants  
17 occurred in both cases.

18 **Key words:** micropropagation, *in vitro* propagation, bamboo, disinfestation, *Guadua*  
19 *angustifolia* Kunt.

20

#### 21 **INTRODUÇÃO**

22

23 O bambu é uma planta da subfamília Bambusoideae, que pertence à família Poaceae  
24 (PEREIRA & BERALDO, 2008). Segundo SALGADO (2014) existem no mundo 1300

1 espécies com um total de 45 gêneros. Ainda o Brasil possui a maior quantidade de gêneros de  
2 bambus nas américas, sendo 232 espécies de bambu identificadas (FILGUEIRAS & SANTOS-  
3 GONÇALVES 2004)

4 Segundo PRESZNHUK (2004) a cultura oriental possui inúmeras utilidades para a  
5 matéria prima. Atualmente possui potencial pouco explorado, sendo que possui uma fibra forte  
6 que quando bem empregada, rende muitos usos, principalmente na construção civil  
7 (OLIVEIRA, 2013).

8 O bambu por ser uma planta C4 tem grande produção de biomassa, recuperação do CO<sub>2</sub>  
9 sendo um contribuinte para melhora do efeito estufa. Pode ser usado na recuperação de áreas  
10 desgastadas, combate contra a erosão, e melhoramento químico e físico do solo. Outro recurso  
11 muito importante é o carvão de bambu, que possui poder calorífico maior que madeiras comuns.  
12 (GIELIS & OPRINS, 2002).

13 Os bambus são constituídos, basicamente, de um rizoma subterrâneo e de um colmo  
14 lenhoso, oco, com feixes de fibras, vasos e células parenquimáticas dispostas longitudinalmente  
15 (BERALDO et al.,1996). Segundo HIDALGO-LÓPEZ (2003) o bambu *Guadua angustifolia*  
16 possui diâmetro entre 10 a 14 cm e alturas de 18 a 23 metros, possui durabilidade e elevada  
17 força, sendo largamente usado em construções na Colômbia e Equador. Ainda CRUZ RIOS  
18 (1994) destaca que no ocidente um dos gêneros mais utilizados é o *Guadua*.

19 De acordo com BAREJA (2010), o bambu pode ser multiplicado através de métodos  
20 sexuais, através das sementes O difícil deste método é que o florescimento da espécie é  
21 imprevisível. Por ela ser monocárpica e o florescimento pode levar até mais de cem anos. O  
22 gênero *Guadua* possui florescimento irregular e baixa viabilidade de sementes em torno de 3%  
23 (SALGADO & AZZINI 1994).

1 Segundo BAREJA (2010) os métodos assexuados utilizam colmos, rizomas, gemas  
2 laterais e divisão de touceira. Além disso, SALGADO et al. (1992) complementa que dos vários  
3 métodos de propagação vegetativa, retirada de rebentos, pedaços de rizoma e partes de colmo,  
4 esses possuem a desvantagem de destruir a área de cultivo para a retirada de mudas.

5 Segundo CARVALHO (1996) o cultivo *in vitro* consiste no crescimento e multiplicação  
6 de células vegetais. A micropropagação baseia seu sucesso no conceito da totipotência da célula  
7 vegetal, que seria a capacidade de uma única célula da planta originar embriões ou órgãos que  
8 formarão uma planta inteira.

9 Por conta das dificuldades de propagação da cultura e a crescente demanda dessa  
10 espécie, métodos efetivos de propagação assexuada visando a rápida produção de mudas, se  
11 tornam necessário. Neste caso a micropropagação vem como uma opção para esse  
12 desenvolvimento, rentável e sustentável de obtenção de mudas. Sendo assim a pesquisa de  
13 determinação de um protocolo de introdução *in vitro* de *Guadua angustifolia* é de suma  
14 importância.

15

## 16 **MATERIAL E MÉTODOS**

### 17 **Introdução *in vitro* de *Guadua angustifolia***

18 O experimento foi realizado no Laboratório de Micropropagação de Plantas da  
19 Universidade Federal do Paraná. Localizado no campus de Ciências Agrárias da UFPR, no  
20 departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo.

21 A coleta de material foi feita em mudas vindas da UFSC por doação para o projeto do  
22 bambu da UFPR, estavam na casa de vegetação do laboratório de Micropropagação de Plantas.  
23 Eram regadas todos os dias com água e uma vez ao mês com meio MS.

1           Foram coletados segmentos nodais de *Guadua angustifolia* que segundo GUERRA &  
2 NODARI (2006) possuem gemas simples ou múltiplas. Destes segmentos nodais de *Guadua*  
3 *angustifolia*, foram retiradas as bainhas e seccionados para terem em média 25 mm de  
4 comprimento com 1.5 – 3.0 mm de diâmetro, em seguido foram limpos com auxílio de algodão  
5 com álcool 70%. Na câmara de fluxo laminar, desinfestada com álcool etílico 70%, foram  
6 realizados os procedimentos de desinfestação dos explantes. As placas de Petri, as pinças e  
7 bisturis utilizados foram esterilizadas em autoclave a 121°C por 20 minutos.

8           Os tratamentos de desinfestação comparados foram os seguintes:

- 9           0. Tratamento padrão, 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em NaOCl 2 % com 2  
10           gotas de Tween<sup>®</sup> 80.
- 11           1. 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em HgCl<sub>2</sub> 0,1%.
- 12           2. 30 segundos no álcool 70% + 30 minutos de imersão em 8 ml/L de PPM<sup>®</sup>.
- 13           3. 30 segundos no álcool 70% + 15 minutos em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 %.
- 14           4. 24 horas em Cercobim<sup>®</sup> 2g/L + 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em NaOCl 2  
15           % com 2 gotas de Tween<sup>®</sup> 80.

16           Com exceção do tratamento 30 segundos no álcool 70% + 30 minutos de imersão em 8  
17 ml/L de PPM<sup>®</sup>, os demais foram feitos tríplice enxágue com água estéril, após a assepsia.

18           Após os procedimentos de desinfestação, realizados em câmara de fluxo laminar  
19 previamente limpa com álcool 70%, os segmentos nodais foram inoculados em tubos de  
20 ensaio de 250 ml contendo 10ml de meio de cultura, fechados com tampas de polipropileno e  
21 vedados com papel filme.

22           O meio utilizado foi o MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) padrão, previamente  
23 autoclavado a 121° C por 20 minutos, acrescido de 1 442 µM de BAP, 30g/L de sacarose e 6g/L  
24 de Ágar, pH ajustado para 5,8. Os explantes foram inoculados em posição vertical e mantidos,

1 com o auxílio de uma grade de suporte, em câmara de crescimento por 14 dias com foto período  
2 de 16 horas, com lâmpadas brancas frias, e temperatura de 25°C.

3 O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), com 5 tratamentos  
4 e 4 repetições com 6 unidades experimentais. Após 14 dias de cultivo, o experimento foi  
5 avaliado de acordo com as seguintes variáveis: Quantidade de explantes contaminados por  
6 fungos, porcentagem de explantes assépticos e número de brotos. Após as análises os dados  
7 foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância, quando  
8 significativos, foram submetidos ao teste de Tukey também a 5% de significância.

9

## 10 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

11 Para a variável contaminação por fungos, os tratamentos que se diferenciaram  
12 estatisticamente dos demais (tabela 1), foram 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em  
13 HgCl<sub>2</sub> 0,1% e 24 horas em Cercobim<sup>®</sup> 2g/L + 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em  
14 NaOCl 2 % com 2 gotas de Tween<sup>®</sup> 80, sendo que o primeiro ficou com uma taxa de  
15 contaminação média por fungos de 16,66% (gráfico 1), sendo o valor inferior entre os  
16 tratamentos.

17 Para a avaliação de explantes sem contaminação, o tratamento com 30 segundos no  
18 álcool 70% + 10 minutos em HgCl<sub>2</sub> 0,1% teve diferenças estatísticas significativas (tabela 1)  
19 quando comparados aos demais tratamentos, sendo o tratamento com maior porcentagem de  
20 explantes isentos de contaminação com valor médio de 24,99% (gráfico 2). Ainda, nos  
21 tratamentos 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em NaOCl 2 % com 2 gotas de Tween<sup>®</sup>  
22 80, 30 segundos no álcool 70% + 30 minutos de imersão em 8 ml/L de PPM<sup>®</sup> e 24 horas em  
23 Cercobim<sup>®</sup> 2g/L + 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em NaOCl 2 % com 2 gotas de  
24 Tween<sup>®</sup> 80 não ocorreram explantes sem contaminação.

1            Para a variável brotações, não houve diferença significativa entre os tratamentos (tabela  
2 1). Sendo que ocorreram em todos os tratamentos, as médias que se destacaram foram os  
3 tratamentos 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em HgCl<sub>2</sub> 0,1% e 24 horas em Cercobim<sup>®</sup>  
4 2g/L + 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em NaOCl 2 % com 2 gotas de Tween<sup>®</sup> 80  
5 ambos com porcentagem média de 37,49% (gráfico 3).

6            Segundo GRIFFINTGS & RAY (1979) os compostos clorados possuem características  
7 biocidas de amplo espectro, porém no tratamento padrão com 30 segundos no álcool 70% + 10  
8 minutos no NaOCl 2 % com 2 gotas de Tween<sup>®</sup> 80 houve alta porcentagem de contaminação  
9 por fungos (figura 1), com porcentagem média de 87,50% (gráfico 1), este sendo o valor mais  
10 alto encontrado entre os tratamentos, ARAÚJO et al. (2015) com tratamento de 1 minuto em  
11 álcool 70%, após em NaOCl 2,0%, com duas gotas de detergente comum, por 15 minutos sob  
12 agitação contínua e seguido de tríplice lavagem com água destilada autoclavada, e por fim  
13 agitação da amostra em solução de NaOCl 1,25% por 5 minutos, seguido de 5 lavagens em  
14 água destilada e autoclavada, também obteve uma alta contaminação por fungos, de 65,38%  
15 em explantes de *Dendrocalamus asper*. Já neste experimento alguns explantes tiveram  
16 contaminação por fungos e bactérias. A alta contaminação por fungos tornou inviável a  
17 avaliação visual de contaminação por bactérias, porém em todos os tratamentos houve  
18 contaminações bacterianas. Sendo assim, a análise desta variável não pôde ser feita.

19            O tratamento 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos no HgCl<sub>2</sub> 0,1% teve a menor  
20 contaminação por fungos, com porcentagem média de 16,67%(gráfico 1), e ao mesmo tempo  
21 apresentou oxidação dos explantes (figura 2C) e escurecimento do meio de cultura.

22            DUTRA et al. (2008) encontrou o mesmo tipo de oxidação dos explantes com a mesma  
23 concentração e tempo de exposição, para a cultura da erva-mate. SALLES et al. (2017) com  
24 brotações axilares de acácia em mesma concentração e exposição de 15 minutos de HgCl<sub>2</sub>,

1 observou oxidação dos explantes, outro trabalho com resultados parecidos é o de FLORES et  
2 al. (2006), também teve relativo sucesso no controle de fungos, com o uso de HgCl<sub>2</sub> em  
3 tratamento combinado com NaOCl e álcool etílico 70%, na desinfestação de *Pfaffia tuberosa*,  
4 a substância foi utilizada por cinco minutos, no trabalho o autor encontrou anomalias nos  
5 explantes, que atribuiu ao uso do HgCl<sub>2</sub>. Segundo TAIZ & ZEIGER (2013) a imersão em  
6 soluções desinfetantes pode causar injurias que estimulam atividade da enzima fenilalanina  
7 amonialiase que produz compostos que provocam necrose em explantes. Por tanto o tempo de  
8 exposição usado no presente trabalho pode ter acarretado na oxidação de explantes, entretanto  
9 foi o tratamento mais eficiente no controle de microrganismos em *Guadua angustifolia*, o que  
10 possibilita a utilização das brotações obtidas para uma propagação massal.

11 Segundo DAVEY & ANTHONY (2010), o PPM<sup>®</sup> é um biocida e fungicida de amplo  
12 espectro para a cultura de tecidos. Entretanto no presente trabalho o tratamento 30 segundos no  
13 álcool 70% + 30 minutos de imersão em 8 ml/L de PPM<sup>®</sup> apresentou porcentagem média de  
14 contaminação por fungos de 66,67% (gráfico 1) e nenhum explante sem contaminação (figura  
15 3). A baixa eficiência do tratamento pode ser explicada por GUNSON & SPENCERPHILLIPS  
16 (1994) quando verificaram que as células microbianas dos organismos endofíticos não ficam  
17 diretamente expostas ao PPM<sup>®</sup>, sendo que a penetração e a concentração dos biocidas nas  
18 células pode ser reduzida por conta da quantidade de água nos tecidos vegetais.

19 Segundo ARAÚJO et al. (2015) a contaminação por microrganismos pode estar ligada  
20 aos microrganismos endofíticos que não são eliminados pela assepsia superficial, por conta que  
21 os mesmos estão presentes no interior dos tecidos vegetais. Segundo SMITH (2000) a  
22 contaminação endofítica não prejudica o desenvolvimento dos explantes apenas pela  
23 competição por nutrientes do meio de cultura, mas sobretudo pela liberação de compostos  
24 tóxicos no meio de cultura durante o desenvolvimento de fungos e bactérias.

1 O tratamento 30 segundos no álcool 70% + 15 minutos em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10%, apresentou  
2 porcentagem média de contaminação por fungos de 79,17% (gráfico 1), e apenas um explante  
3 sem contaminação (figura 4B), entretanto esse estava morto. Visualmente o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi o  
4 tratamento com mais explantes mortos (figura 4A). Segundo MORIYA (2008) a decomposição  
5 rápida do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> é reduzida na presença de matéria orgânica. Segundo SMIRNOFF (1993) o  
6 oxigênio molecular, quando em contato com o metabolismo pode formar espécies reativas de  
7 oxigênio. Ainda VARGAS (2016) obteve sucesso ao adicionar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nas concentrações 0,3; 0,7  
8 e 1,5% no meio de cultura para cultivo *in vitro* de porta-enxerto de pessegueiro. Todos os fatores  
9 citados e a concentração da substância podem ter contribuído para a alta taxa de contaminação  
10 e visual oxidação de explantes.

11 Para o tratamento 24 horas em Cercobim<sup>®</sup> 2g/L + 30 segundos no álcool 70% + 10  
12 minutos em NaOCl 2 % com 2 gotas de Tween 80<sup>®</sup>, a taxa de contaminação por fungos foi alta,  
13 54,19 % (gráfico 1) e não ocorreram explantes sem contaminação (figura 58), com a utilização  
14 de um fungicida sistêmico, esperava-se níveis inferiores de contaminação, valores altos de  
15 contaminação por fungos também foram encontrados por GUERRA (2014), onde conforme  
16 aumentava a concentração do fungicida, a taxa de contaminação cresceu em explantes  
17 caulinares de *Xylopiá sericea*. Ainda neste experimento ocorreu oxidação (figura 5A) e morte  
18 (figura 5B) dos explantes.

19 Por conta das altas taxas de contaminação, independentemente do método de assepsia,  
20 fica clara a presença de fungos e bactérias endofíticas nos tecidos vegetais de *Guadua*  
21 *angustifolia*, o que dificultou o trabalho de introdução *in vitro*.

22

## 1 CONCLUSÕES

2 A contaminação em todos os tratamentos demonstrou a possibilidade da presença de  
3 organismos endofíticos, que mesmo que não sejam patógenos, dificultam o estabelecimento *in*  
4 *vitro*.

5 O desenvolvimento da da gema vegetativa induzida dos explantes a partir de segmentos  
6 nodais mostra o potencial da micropropagação para obtenção de mudas de *Guadua angustifolia*.

7 O tratamento com 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em HgCl<sub>2</sub> 0,1% foi o que  
8 apresentou melhores resultados na assepsia dos explantes nodais de *G. angustifolia*, sendo esse  
9 o tratamento indicado para realizar na desinfestação. O que possibilita a utilização das brotações  
10 obtidas para uma propagação massal e futuros estudos de multiplicação com citocininas. Ainda  
11 sendo importante testes que definam a melhor concentração e tempo de utilização do  
12 tratamento.

## 13 REFERÊNCIAS

- 14 ARAUJO, C.H.P. et al. **Estabelecimento in vitro de duas espécies de bambu:**  
15 **Dendrocalamus asper (Schultes f.) Backer ex Heyne E Bambusa oldhamii Munro:**  
16 **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.22; p. 2015  
17 BAREJA, B. G. **Bamboo Production and Propagation Methods**. Cropsreview.com. 2010. 19  
18 p.  
19 BERALDO, A. L. et al. **Bambu Características e Aplicações**. 1996.  
20 CARVALHO, J.M.F.C. de. **Aplicacion de las tecnicas de cultivo in vitro en la multiplicación**  
21 **y mejora del algodón (Gossypium hirsutum L)**. 1996. Tese (Doutorado em Engenharia  
22 Agrônoma) – Departamento de Biología Vegetal, Escuela Tecnica Superior de Ingenieros  
23 Agronomos de la Universidad Politecnica de Madrid, Madrid, 1996.  
24 CRUZ RIOS, H. **La Guadua: Nuestro Bambu. Armênia – Quindío – Colômbia**. 1994. 293 p

1 DAVEY, M. R.; ANTHONY, P. **Plant cell culture: essential methods**. Chichester, UK:  
2 Willey-Blackwell, 2010. 359 p.

3 DUTRA, L.F. et al. Introdução ao Cultivo in vitro de Erva-mate (*Ilex paraguariensis*). Colombo:  
4 Embrapa Florestas, 2008. 33p. ISSN 1980-041X.

5 FILGUEIRAS, T.S; SANTOS-GONÇALVES, A.P. **A checklist of the basal grasses and**  
6 **bamboos in Brazil (Poaceae)**. Bamboo Science and Culture, A.P. 2004 18:7-18.

7 FLORES, R. et al. **Otimização da micropropagação de Pfaffia tuberosa (Spreng.) Hicken**.  
8 Revista Ciência Rural, v. 36, n. 3, p. 845-851, 2006.

9 GENEROSO, A. L. **Caracterização Morfológica e Cultivo *in vitro* de Espécies de Bambu**.  
10 2014. 57 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Centro de  
11 Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy  
12 Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2014.

13 GIELIS, J; OPRINS, J. **Micropropagation of tropical and temperate bamboos - from**  
14 **biotechnological dream to commercial reality**. Bamboo for Sustainable Development. VSP  
15 Publisher, Zeist, Netherlands. 2002.

16 GRIFFINGS, L.R.; RAY, P.M. **Dependence of cell wall secretion on calcium**. Plant  
17 Physiology, Rockville, v.63, n.5, p.51, 1979.

18 GUERRA, C.A. **Assepsia de Explantes Caulinares de Xylopa Sericea St. Hill com**  
19 **Fungicida Sistêmico**. 2014. 17 f. Trabalho de Conclusão de Curso-Faculdade de Tecnologia  
20 em Silvicultura, Instituto Federal de Minas Gerais – Campus São João Evangelista, Minas  
21 Gerais, 2014.

22 GUERRA, M.P; NODARI, R.O. **Apostila de Biotecnologia – CCA/ UFSC. Laboratório de**  
23 **Biotecnologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal**. Edição da Steinmacher (2006).

1 GUNSON, H.E, SPENCER-PHILLIPS P.T. N. **Latent bacterial infections: epiphytes and**  
2 **endophytes as contaminants of micropropagated plants.** In: Lumsden PJ, Nicholas JR,  
3 Davies WJ (eds) *Physiology, growth and development of plants in culture.* Kluwer Academic  
4 Publishers, Netherlands, pp 379–396, 1994.

5 HIDALGO- LÓPEZ, O. **Bamboo: the gift of the gods.** Bogota - Colômbia Oscar Hidalgo-  
6 P.O. Box, 2003. 553 p.

7 MORIYA, T; MÓDENA J.L.P, **Assepsia e Antissepsia: Técnicas de Esterilização.** Medicina  
8 (Ribeirão Preto). 2008; 41 (3): 265-73.

9 MURASHIGE, T.; SKOOG, F. **A Revised medium for rapid growth and bio assays with**  
10 **Tobacco tissue cultures.** *Physiologia Plantarum*, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

11 OLIVEIRA, L. F. A. **Conhecendo bambus e suas potencialidades para uso na construção**  
12 **civil.** Monografia (Especialização) -Curso de Especialização em Construção Civil, Escola de  
13 Engenharia UFMG, Belo Horizonte, 2013

14 PEREIRA, M. A. R.; BERALDO, A. L. **Bambu de corpo e alma.** Bauru: Canal 6 editoras,  
15 2008. 239p

16 PRESZNHUK, R. A. O. **Estudo da Viabilidade do Filtro de Carvão de Bambu como Pós-**  
17 **tratamento em Estação de Tratamento de Esgoto por Zona de Raízes: Tecnologia**  
18 **Ambiental e Socialmente Adequada.** Dissertação (Mestrado em Tecnologia) – Centro Federal  
19 de Educação Tecnológica do Paraná, Curitiba. 2004.

20 SALGADO, A.L.B, et al. **Instruções Técnicas sobre o Bambu.** Campinas: Instituto  
21 Agrônômico, 1992. 43 p. (Boletim Técnico, 143).

22 SALGADO, A. L. B; AZZINI, A. **O bambu: 100 anos para florescere depois morre. O**  
23 **agronômico,** 1994. v. 46, n. 1/3, p.15-20.

- 1 SALGADO, A.L.B. **Bambu com sal: aqui e agora, lá e então.** Campinas: Amaro  
2 Comunicação, 1ªed. 2014. 352p.
- 3 SALLES, A.P.B, et al. **Desinfestação e introdução in vitro de segmentos nodais de *Acacia***  
4 ***mearnsii Ecléia.*** Pesq. flor. bras., Colombo, v. 37, n. 92, p. 485-491, out./dez. 2017
- 5 SMIRNOFF, N. **The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and**  
6 **desiccation.** New Phytology, v.125; p.27- 58, 1993.
- 7 SMITH, J. **Micro-propagation of the Gynea Lily: a report for the Rural Industries**  
8 **Research and Development Corporation.** Kingston: Rural Industries Research &  
9 Development Corporation, 2000. 59 p
- 10 TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.
- 11 VARGAS, D.P. et al. **Esterilização Química Para O Cultivo in Vitro de Porta-Enxerto De**  
12 **Pessegueiro,** 2016. 6 f. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Clima  
13 Temperado, Pelotas, Rio Grande do Sul, 2016.

## ANEXO 1 – TABELAS, GRÁFICOS E FIGURAS.

1

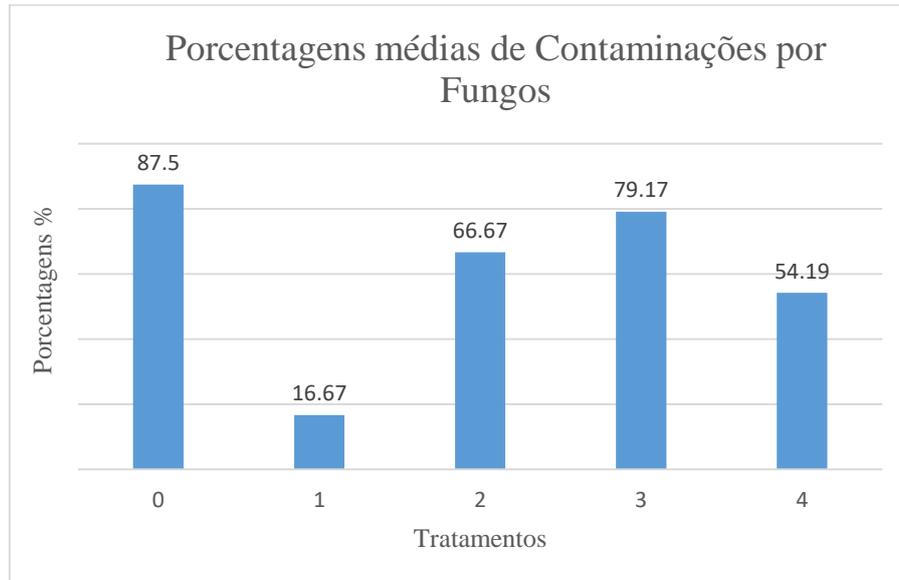
2

3 Tabela 1- Comparação de médias por Tukey\* para as variáveis, contaminação por fungos,  
4 explantes sem contaminação e número de explantes com brotações. Avaliados após os  
5 tratamentos de assepsia T0- 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em NaOCl 2 % com 2  
6 gotas de Tween<sup>®</sup> 80; T1- 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em HgCl<sub>2</sub> 0,1; T2- 30  
7 segundos no álcool 70% + 30 minutos de imersão em 8 ml/L de PPM<sup>®</sup>; T3- 30 segundos no  
8 álcool 70% + 15 minutos em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % e T4- 24 horas em Cercobim<sup>®</sup> 2g/L + 30 segundos no  
9 álcool 70% + 10 minutos em NaOCl 2 % com 2 gotas de Tween<sup>®</sup> 80 em meio MS por 14 dias.

Tratamentos**	NECF <sup>1</sup>	ESC <sup>2</sup>	ECB <sup>3</sup>
0	5.25 B*	0.00 A	0.75 A
1	1.00 A	1.50 B	2.25 A
2	4.00 B	0.00 A	0.50 A
3	4.75 B	0.25 A	0.50 A
4	3.25 AB	0.00 A	2.25 A
CV%	33.37	97.59	66.13

10 **Fonte:** Elaborado pela autora, 2018.

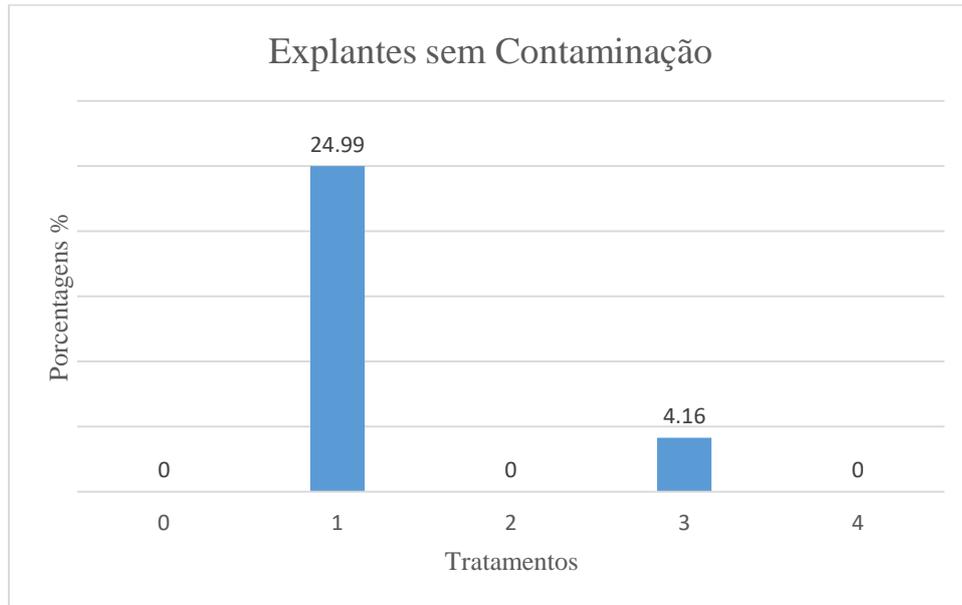
11 \*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey  
12 ao nível de 5% de probabilidade. 1 - Número de explantes contaminados por fungos, 2 -  
13 Explantes sem contaminação e 3 - Explantes com brotações. \*\* Tratamentos descritos na  
14 metodologia.



1

2 Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

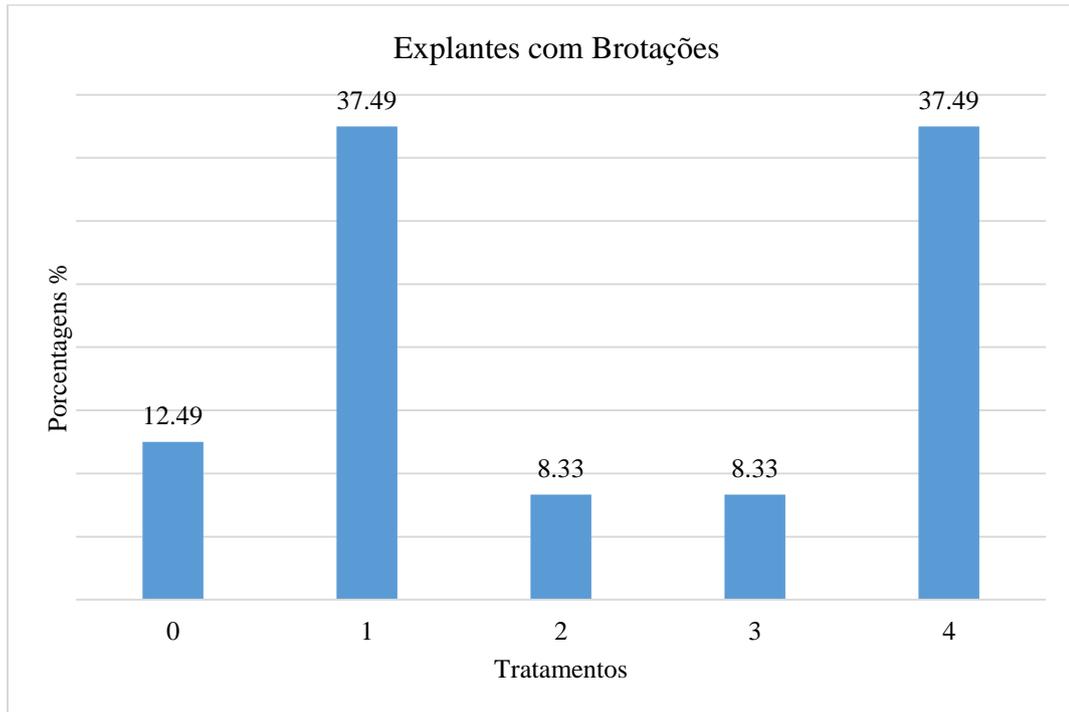
3 Gráfico 1– Comparação de porcentagens, por média simples, de contaminação por fungos em  
4 todos os tratamentos



1

2 Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

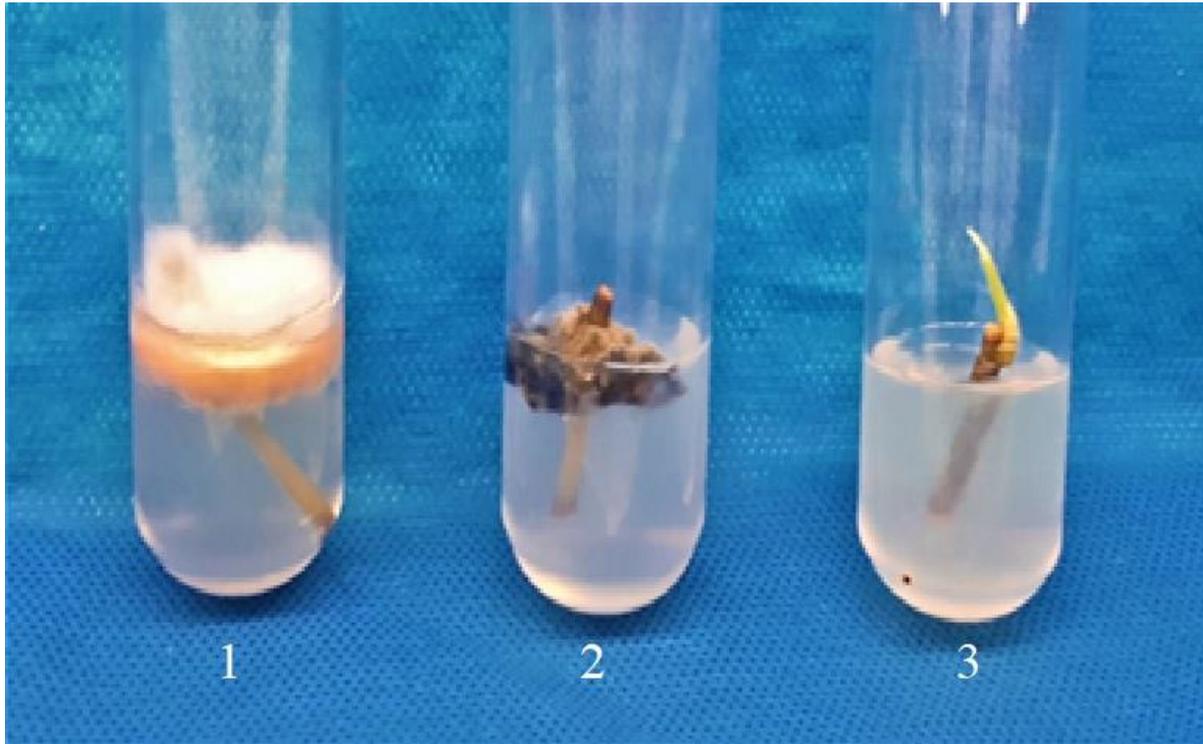
3 Gráfico 2 – Comparação das porcentagens, por média simples, da quantificação de explantes  
4 sem contaminação



1

2 Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

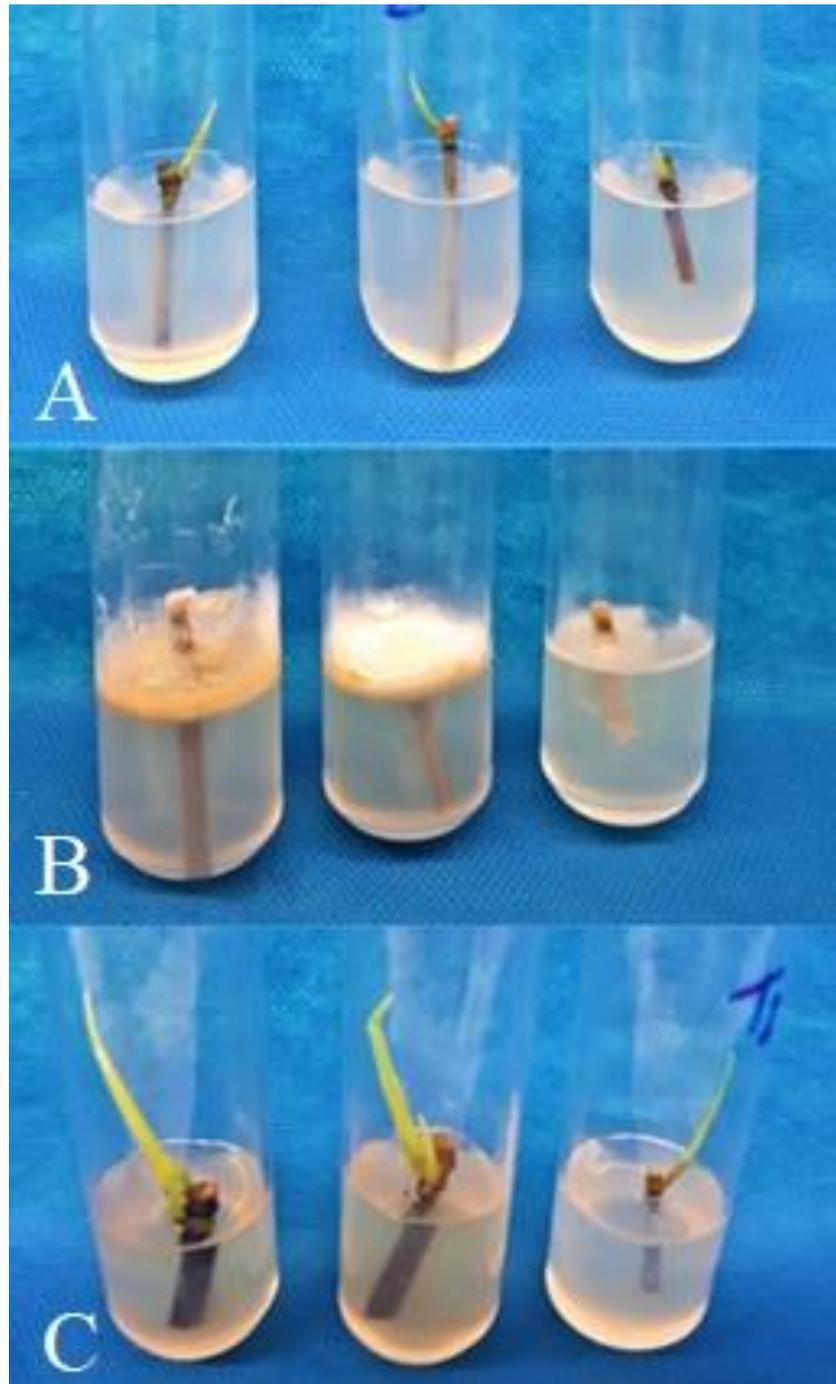
3 Gráfico 3 – Comparação das porcentagens, por média simples, da quantificação de explantes  
4 com brotações.



1

2 Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

3 Figura 1 – Explantes do tratamento 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em NaOCl 2 %  
4 com 2 gotas de Tween<sup>®</sup> 80 inoculados por 14 dias em meio MS, explantes 1 e 2 contaminados  
5 por fungos e explante 3 por bactéria, tratamento não obteve explantes sem contaminação.



1

2 Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

3 Figura 2 – Explantes do tratamento 30 segundos no álcool 70% + 10 minutos em  $\text{HgCl}_2$  0,1  
4 inoculados por 14 dias em meio MS, (A) explantes sem contaminação, mas com oxidação; (B)  
5 explantes com contaminação por fungos e bactérias, nesta ordem, oxidação e morte de  
6 explantes; (C) contaminação bacteriana, oxidação de explantes.

1

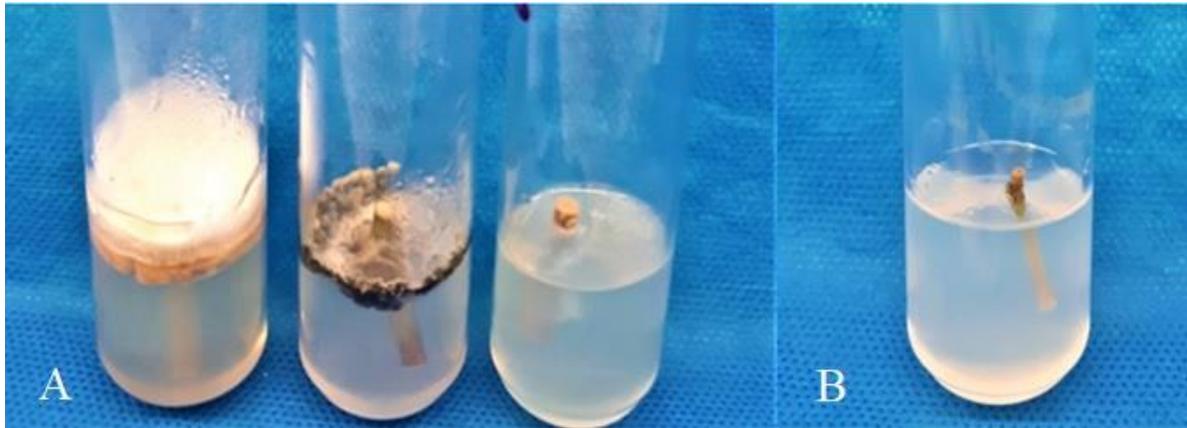


2

3 Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

4 Figura 3 – Explantes do tratamento 30 segundos no álcool 70% + 30 minutos de imersão em 8  
5  $\text{ml L}^{-1}$  de PPM<sup>®</sup> inoculados por 14 dias em meio MS, contaminados por fungos e por  
6 bactérias, explantes oxidados.

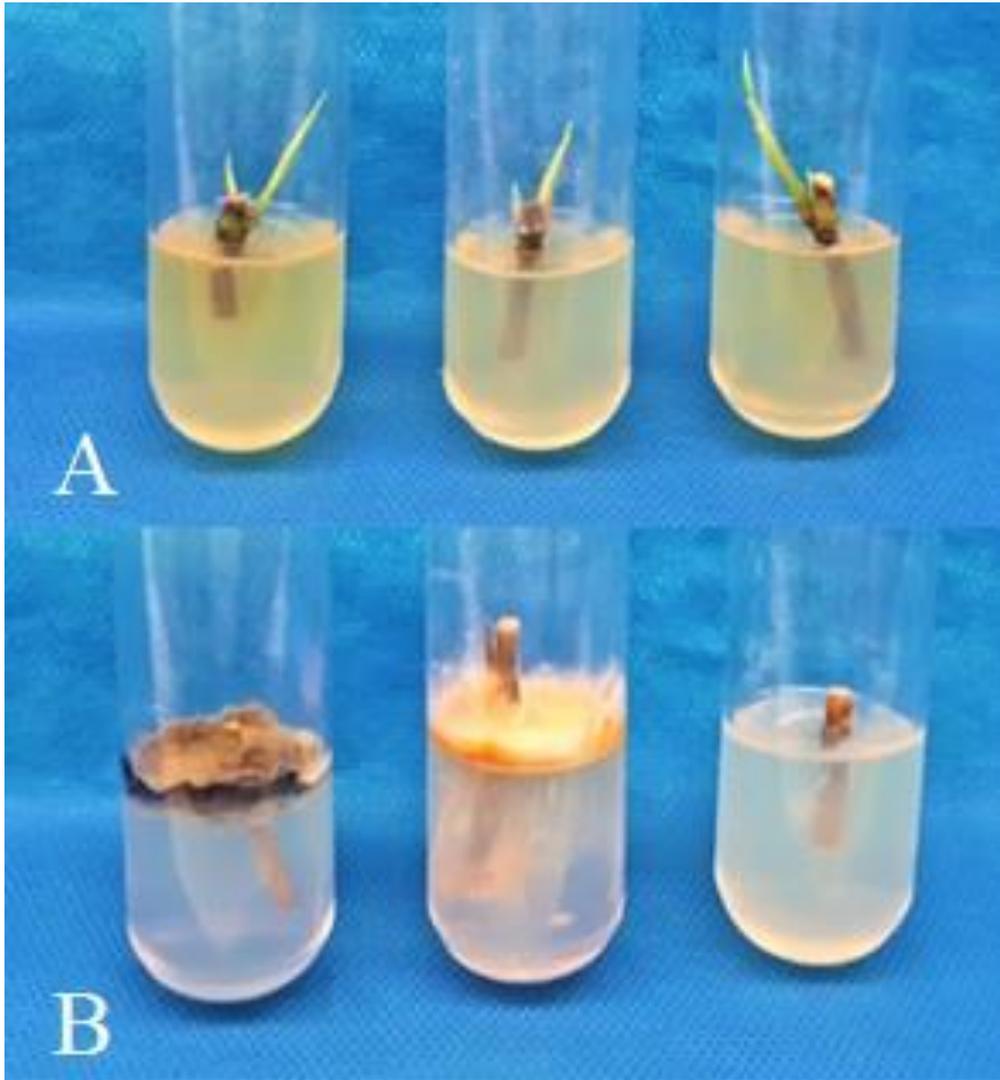
7



1

2 Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

3 Figura 4 – Explantes do tratamento 30 segundos no álcool 70% + 15 minutos em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 %  
4 inoculados por 14 dias em meio MS, (A) explantes contaminados por fungos (2 primeiros tubos  
5 da esquerda), e explante contaminado por bactéria (tubo da direita); (B) Único explante sem  
6 contaminação, porém oxidado e morto



1

2 Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

3 Figura 5 – Explantes do tratamento, 24 horas em Cercobim® 2g/L + 30 segundos no álcool 70%  
4 + 10 minutos em NaOCl 2 % com 2 gotas de Tween® 80 inoculados por 14 dias em meio MS,  
5 (A) contaminação por bactéria; (B) contaminação por fungos.

6

## ANEXO 2 - NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

**1. CIÊNCIA RURAL** - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

**2. Os artigos científicos, revisões e notas** devem ser encaminhados via eletrônica e editados **preferencialmente em idioma Inglês**. Os encaminhados em Português poderão ser traduzidos após a 1º rodada de avaliação para que ainda sejam revisados pelos consultores ad hoc e editor associado em rodada subsequente. Entretanto, caso **não traduzidos** nesta etapa e se **aprovados** para publicação, terão que ser **obrigatoriamente traduzidos para o Inglês** por empresas credenciadas pela Ciência Rural e obrigatoriamente terão que apresentar o certificado de tradução pelas mesmas para seguir tramitação na CR.

### Empresas

### credenciadas:

- American Journal Experts (<http://www.journalexerts.com/>)
- Bioedit Scientific Editing (<http://www.bioedit.co.uk/>)
- BioMed Proofreading (<http://www.biomedproofreading.com>)
- Edanz (<http://www.edanzediting.com>)
- Editage (<http://www.editage.com.br/>) 10% discount for CR clients. Please inform Crural10 code.
- Enago (<http://www.enago.com.br/forjournal/>) Please inform CIRURAL for special rates.
- GlobalEdico (<http://www.globaledico.com/>)
- JournalPrep (<http://www.journalprep.com>)
- Paulo Boschov ([paulo@bridgetextos.com.br](mailto:paulo@bridgetextos.com.br), [bridge.textecn@gmail.com](mailto:bridge.textecn@gmail.com))
- Proof-Reading-Service.com (<http://www.proof-reading-service.com/pt/>)
- Readytopub (<https://www.readytopub.com/home>)

O trabalho após tradução e o respectivo certificado devem ser enviados para: [rudiweiblen@gmail.com](mailto:rudiweiblen@gmail.com)

**As despesas de tradução serão por conta dos autores.** Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. O máximo de páginas será **15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para**

**nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras.** Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que não poderão ultrapassar as margens e **nem estar com apresentação paisagem.**

**Tendo em vista o formato de publicação eletrônica estaremos considerando manuscritos com páginas adicionais** além dos limites acima. No entanto, os trabalhos aprovados que possuírem páginas além do estipulado terão um custo adicional para a publicação (vide taxa).

**3. O artigo científico** (Modelo .doc, .pdf) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão; Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

**4. A revisão bibliográfica** (Modelo .doc, .pdf) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

**5. A nota** (Modelo .doc, .pdf) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

6. O preenchimento do campo "**cover letter**" deve apresentar, obrigatoriamente, as seguintes informações em inglês, **exceto** para artigos **submetidos em português** (lembrando que preferencialmente os artigos devem ser submetidos em inglês).

a) What is the major scientific accomplishment of your study?

b) The question your research answers?

c) Your major experimental results and overall findings?

d) The most important conclusions that can be drawn from your research?

e) Any other details that will encourage the editor to send your manuscript for review?

Para maiores informações acesse o seguinte tutorial.

7. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista [www.scielo.br/cr](http://www.scielo.br/cr).

8. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

9. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

10. Nesse link é disponibilizado o **arquivo de estilo** para uso com o software **EndNote** (o EndNote é um software de gerenciamento de referências, usado para gerenciar bibliografias ao escrever ensaios e artigos). Também é disponibilizado nesse link o **arquivo de estilo** para uso com o software **Mendeley**.

11. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

11.1. Citação de livro:  
JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.  
TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

**11.2.** Capítulo de livro com autoria:  
GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

**11.3.** Capítulo de livro sem autoria:  
COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: \_\_\_\_\_. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: \_\_\_\_\_. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

**11.4.** Artigo completo:

O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Available from: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Accessed: Mar. 18, 2002. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Response of *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Oryzaephilus surinamensis* (L.) to different concentrations of diatomaceous earth in bulk stored wheat. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008 . Available from: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso)>. Accessed: Mar. 18, 2009. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

SENA, D. A. et al. Vigor tests to evaluate the physiological quality of corn seeds cv. 'Sertanejo'. **Ciência Rural**, Santa Maria , v. 47, n. 3, e20150705, 2017 . Available from: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782017000300151&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782017000300151&lng=pt&nrm=iso)>. Accessed: Mar. 18, 2017. Epub 15-Dez-2016. doi: 10.1590/0103-8478cr20150705 (Artigo publicado eletronicamente).

**11.5.** Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de

girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

**11.6.** Tese, dissertação:

COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad).** 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

**11.7.** Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose.** São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20). (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

**11.8.** Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

**11.9.** Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico.** São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Online. Available from: <<http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/Lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>>. Accessed: Mar. 18, 2005 (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

UFRGS. **Transgênicos.** Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Online. Available from: <<http://www.zh.com.br/especial/index.htm>>. Accessed: Mar. 18, 2001(OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Online. Available

from: <[http://www. Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm](http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm)>. Accessed: Mar. 18, 2007.

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

**12.** Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

**13.** Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

**14.** Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

**15.** Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).

**16.** Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

**17.** Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

**18.** Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

**19.** Todos os artigos encaminhados devem pagar a taxa de tramitação. Artigos reencaminhados (**com decisão de Reject and Resubmit**) deverão pagar a taxa de tramitação novamente. Artigos arquivados por **decorso de prazo** não terão a taxa de tramitação reembolsada.

**20.** Todos os artigos submetidos passarão por um processo de verificação de plágio usando o programa “Cross Check”.