

## Volume do frasco e consistência do meio de cultura na multiplicação *in vitro* da bananeira ‘Maçã’

Flask size and growth medium consistence in the *in vitro* multiplication of ‘Maçã’ banana tree

Mara Rubia Camolesi<sup>I</sup> Ricardo Tadeu de Faria<sup>II\*</sup> Carmen Silvia Vieira Janeiro Neves<sup>II</sup>  
Adriana Novais Martins<sup>III</sup>

### RESUMO

A propagação *in vitro* da bananeira possibilita produzir, em larga escala, mudas livres de doenças em curto espaço de tempo. Para otimizar o processo de micropropagação, pode-se modificar a metodologia de produção das mudas, levando-se em conta também a manutenção da qualidade. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do volume do frasco e da consistência do meio de cultura na taxa de multiplicação e no desenvolvimento de mudas de bananeira ‘Maçã’, propagadas *in vitro*. A partir de ápices caulinares, foram realizados quatro subcultivos (S2, S3, S4 e S5) em meio MS modificado com metade da concentração dos macronutrientes, acrescido de 30g L<sup>-1</sup> de sacarose e 2,5mg L<sup>-1</sup> de BAP (6 benzilaminopurina), em tratamento fatorial 2x2: dois tipos de meio de cultivo (semissólido por adição de 1,6g L<sup>-1</sup> de Phytigel<sup>TM</sup> e líquido estacionário) e frascos de dois volumes (250 e 500mL). As plântulas foram induzidas ao enraizamento *in vitro* e aclimatizadas em estufas, em bandejas de 72 células, e posteriormente cultivadas em sacos de polipropileno de 17x18cm. O cultivo meio líquido em frasco de 500mL pode ser adotado com sucesso para multiplicação de mudas de banana ‘Maçã’, tendo sido observada maior taxa de multiplicação (25,27 brotos/frasco), melhor adaptação no início da aclimatização e desempenho similar aos demais tratamentos após 60 dias de cultivo em sacos de polipropileno.

**Palavras-chave:** micropropagação, *Musa spp.*, cultura de tecidos, meio líquido.

### ABSTRACT

The *in vitro* propagation of the banana is accomplished to produce large quantities of seedlings free from diseases. Micropropagation process can be optimized changing the method, but also considering plantlet quality. The objective

of this work was to evaluate the influence of the flask size and of the growth medium consistence on the multiplication rate and on the initial plantlet development of *in vitro* propagated ‘Maçã’ banana tree. Starting from stem apices, four subcultures were accomplished (S2, S3, S4 and S5) in MS medium modified with the half of the concentration of the macronutrients, added of 30g L<sup>-1</sup> of sucrose, 2.5mg L<sup>-1</sup> of BAP (6-benzylaminopurine) in factorial design 2x2: two types of growth media (semi solid by addition of 1.6g L<sup>-1</sup> Phytigel<sup>TM</sup> and stationary liquid), and two flask sizes (250 and 500mL). Plantlets were induced *in vitro* rooting and acclimatization in greenhouse using trays with 72 cells and later grown in 17x18cm polypropylene bags. Cultivation in liquid medium bottle of 500mL can be successfully adopted for propagation of ‘Maçã’ banana plantlets because it had larger multiplication rate (25.27), better adaptation in the initial stage of acclimatization and similar performance to the other treatments after 60 days of cultivation in the bags.

**Key words:** micropropagation, *Musa spp.*, tissue culture, liquid medium.

### INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca na produção de banana, e o Estado de São Paulo é responsável por 15,4% da produção nacional, observando-se um aumento da área de cultivo nas últimas safras (CASER et al., 2008). Juntamente com a expansão da bananicultura, ocorre aumento da demanda por mudas. A utilização de mudas micropropagadas para a instalação de novas áreas é prática comum entre os produtores, principalmente porque esse tipo de técnica, além de produzir mudas

<sup>I</sup>Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Estadual de Londrina (UEL) Londrina, PR, Brasil.

<sup>II</sup>Departamento de Agronomia, UEL, CP 6001, 86051-990, Londrina, PR, Brasil. \*Autor para correspondência.

<sup>III</sup>Agência Paulista de Tecnologia dos Agonegócios (APTA), Médio Paranapanema, Assis, SP, Brasil.

livres de doenças, também possibilita produção de um número elevado de mudas em curto espaço de tempo (SOUZA et al., 1999). Um dos fatores que ainda prejudica a utilização de mudas micropropagadas é o alto custo para produção, e muitos trabalhos apresentam alternativas, visando a otimizar o processo de multiplicação *in vitro* de mudas de bananeira (DINIZ et al., 1999; KODYM & ZAPATA-ARIAS 1999; KODYM & ZAPATA-ARIAS, 2001; BERNARDI et al., 2004; MADHULATHA et al., 2004; ERIG & SCHUCH, 2005).

A estratégia de aumentar o número de subcultivos não é válida para aumentar o rendimento da quantidade de mudas, pois é de extrema importância preservar o número ideal de subcultivos (SANTOS & RODRIGUES, 2004). É importante também manter a concentração de fitorreguladores entre 1mg L<sup>-1</sup> e 5mg L<sup>-1</sup> (SOUZA et al., 1999), de forma a manter a estabilidade genética dos clones formados, evitando a variação somaclonal.

A consistência do meio de cultivo pode ser um dos fatores de diminuição dos custos, porém é bastante discutida. CALDAS et al. (1998) observaram que o meio líquido normalmente exige algum tipo de suporte ou agitação para fornecer o oxigênio necessário para a respiração do explante. Os mesmos autores observaram que, nos meios semissólidos, pode ocorrer a criação de gradientes na distribuição de nutrientes com o crescimento dos tecidos, o que não acontece em meios líquidos.

De acordo com TEIXEIRA & TORRES (1998), os frascos de conserva de 250mL e 500mL podem ser utilizados em cultura de tecidos e permitem maior rendimento do trabalho do operador. Para multiplicação *in vitro* de bananeira, é comum observar, em laboratórios comerciais, a utilização de frascos de 250mL e meio semissólido, principalmente durante a etapa de multiplicação.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência do volume do frasco e da consistência do meio de cultura na taxa de multiplicação e no desenvolvimento vegetativo de mudas de bananeira 'Maçã' propagadas *in vitro*, durante a fase de aclimatização.

## MATERIAL E MÉTODOS

Mudas do tipo chifrinho de bananeiras da cultivar 'Maçã' (*Musa spp*, grupo AAB), coletadas em propriedade comercial localizada em Assis (SP), com latitude 22°39'42"S, longitude 50°24'44"W e altitude de 546 m, foram utilizadas para retirada de ápices caulinares de aproximadamente 15 mm contendo o meristema apical e algumas camadas de primórdios foliares.

Os ápices caulinares foram estabelecidos em frascos de 250mL contendo 40mL de meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) modificado com a metade da concentração dos macronutrientes e acrescido de 30g L<sup>-1</sup> de sacarose, 1mg L<sup>-1</sup> de BAP (6 benzilaminopurina), 1,6g L<sup>-1</sup> de Phytigel™ (substituto do ágar para solidificação de meio decultura) e pH 5,8 ajustado antes da autoclavagem. Após a inoculação, os ápices caulinares permaneceram no escuro a 25±2°C, por 10 dias; em seguida, foram submetidos ao fotoperíodo de 16h e à intensidade luminosa de 50µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> por mais 20 dias.

Aos 30 dias, os ápices caulinares passaram para a fase de multiplicação, sendo realizado o primeiro subcultivo (S1) no mesmo meio utilizado para a fase de isolamento, com 2,5mg L<sup>-1</sup> de BAP. Nessa fase, os explantes sofreram dois cortes longitudinais para quebra da dominância apical e foram cultivados individualmente em frascos de 250mL contendo 40mL de meio de cultivo.

A partir do segundo subcultivo (S2), os ápices caulinares foram submetidos ao tratamento fatorial 2x2, com dois tipos de meio de cultivo (semissólido) por adição de 1,6g L<sup>-1</sup> de Phytigel™ e líquido estacionário) versus frascos de dois volumes (250mL com 10cm de altura x 6cm de diâmetro e 500mL com 14,5cm de altura e 7,5cm de diâmetro), totalizando quatro tratamentos. Nos frascos de 250mL, foram adicionados 40mL de meio de cultivo, e 60mL de meio de cultivo foram adicionados nos frascos de 500mL. No S2, foram cultivados 26 ápices caulinares por tratamento. Foram realizados quatro subcultivos (S2, S3, S4 e S5) de 30 dias cada, e os frascos foram repicados integralmente, sendo o número final de mudas e frascos cumulativos em cada tratamento.

Os subcultivos de S2 a S5 foram realizados por subdivisão longitudinal dos explantes e subcultivo das gemas laterais, formando touceiras com dois a três brotos. Em cada frasco, foram colocadas duas a três touceiras no início do subcultivo, sendo estas subdivididas e contadas por frasco após o término de cada subcultivo.

Após o término da fase de multiplicação, os brotos foram individualizados e induzidos ao enraizamento em meio líquido modificado com a metade da concentração dos macronutrientes, acrescido de 30g L<sup>-1</sup> de sacarose, sem adição de hormônios e pH 5,8, em frascos de 250mL, por 30 dias.

As mudas foram, então, submetidas ao processo de aclimatização em estufa. Nessa fase, foi avaliada a aclimatização em bandejas (canteiro móvel multicelular de poliestireno expandido com 72 células e medindo 3,5x3,5x6,0cm), com posterior transplante das

mudas para sacos de polipropileno com 17x18cm e volume de 1,5L e nova avaliação. O substrato utilizado foi o Plantmax™, e cada fase da aclimatização durou 30 dias. No início do processo de aclimatização, as plantas em bandejas multicelulares foram submetidas ao sombreamento em tela do tipo sombrite 70%, com cobertura plástica, e foram irrigadas por sistema automático de nebulização acionado por cinco minutos, três vezes ao dia. As plantas cultivadas em sacos plásticos foram irrigadas por aspersão, por cinco minutos, duas vezes ao dia.

Na multiplicação *in vitro*, foram avaliadas as características de número de brotos por frasco de cultivo e número de touceiras por frasco de cultivo. Na aclimatização, foram avaliadas as características de número de folhas, comprimento da parte aérea em mm (medido com régua), número de raízes, comprimento da maior raiz em mm (medido com régua), diâmetro do pseudocaule em mm (medido com paquímetro), na altura do colo para o desenvolvimento em bandejas e em sacos de polipropileno. Também foram avaliadas as características de número de mudas com baixo desenvolvimento e número de mudas mortas no momento em que ocorreu o transplante das mudas das bandejas para os sacos, buscando evidenciar a adaptação das mudas na transferência do ambiente *in vitro* para o *ex vitro*.

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o teste de Tukey, a 5% de probabilidade para comparação das médias. Os dados de contagem foram transformados para  $\sqrt{x+0,5}$ , para a comparação das médias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o subcultivo S2 (Tabela 1), observa-se que, tanto para número de brotos, quanto para número de touceiras, ocorreram diferenças significativas quanto à consistência do meio de cultura, sendo o número total de brotos no meio líquido superior ao do meio semissólido para ambos os volumes de frascos. Para o subcultivo S3, as maiores médias foram observadas para o tratamento meio líquido x frasco de 500mL; para número de brotos e para número de touceiras foi observado que os tratamentos apresentaram comportamento semelhante, exceto quando comparado o meio semissólido com o meio líquido para o frasco de 500mL. No subcultivo S4, o número de brotos por frasco de cultivo e o número de touceiras apresentaram as maiores médias para o tratamento meio líquido x frasco de 500mL.

A disponibilidade de nutrientes proporcionada pelo meio líquido e o maior espaço

dentro do frasco de 500mL para desenvolvimento do rizoma e, conseqüentemente, maior massa para desenvolvimento de brotos proporcionaram ao tratamento meio líquido x frasco de 500mL melhores condições para o desenvolvimento de brotações em banana 'Maçã' (Tabela1).

Observou-se o aumento da taxa de multiplicação com o aumento do número de subcultivos. Na literatura, o aumento da multiplicação é observado dos subcultivos S2 a S6 (OLIVEIRA & SILVA, 1997; OLIVEIRA et al., 1999; SÁ & BRAGA, 2002). Para cinco cultivares do grupo AAB, foram observadas taxas médias, que variaram de 5,5 a 18,0 brotos por explante no subcultivo S2; de 9,2 a 37,3 no subcultivo S3; de 13,0 a 58,0 no subcultivo S4 e de 13,5 a 66,5 no subcultivo S5. OLIVEIRA et al. (1999) obtiveram, para a cultivar 'Prata Anã', nos subcultivos S2, S3 e S4, os valores de 2,18; 3,75 e 3,22 mudas por explante respectivamente, resultando numa média de 68,38 mudas no final de cinco subcultivos. No subcultivo S5, o número médio de brotos variou de 10,58 a 17,76 e o número médio de mudas enraizadas variou de 6,33 a 17,35.

Também foram avaliadas, no subcultivo S5 (Tabela 2), as mudas que apresentavam bom desenvolvimento para serem submetidas ao enraizamento. Na ocasião, foram descartadas mudas menores que 1cm de comprimento e que não apresentavam primórdios foliares. A porcentagem de mudas aproveitadas foi calculada considerando-se os totais. Observou-se que o meio líquido x frasco de 500mL apresentou melhor aproveitamento das mudas em relação aos demais tratamentos, e mais de 97% das mudas produzidas no final do subcultivo S5 apresentaram condições para seguirem para a fase de aclimatização.

Para número total de brotos e para a média de brotos por explante inicial no subcultivo S5, foi obtido para o tratamento meio líquido x frasco de 500mL o número total de 657 brotos, representando uma taxa de 25 plântulas x explante inicial (Tabela 2). OLIVEIRA et al. (2001) obtiveram um total acumulado de 252,38 mudas por explante inicial no final de cinco subcultivos, utilizando 2,5mg L<sup>-1</sup> de BAP para a cultivar tetraploide 'FHIA-01', Grupo Genômico AAAB. BHAGYALAKSHMI & SINGH (1995) observaram que o meio líquido foi melhor para a multiplicação, enquanto o meio semissólido proporcionou as melhores taxas de sobrevivência *ex vitro*. Os resultados diferem dos apresentados por COSTA et al. (2007), que observaram menor índice de multiplicação do meio líquido estacionário (2,0 brotos por explante) em relação ao meio semissólido solidificado com ágar (4,8 brotos por explante) para a concentração de 2mg L<sup>-1</sup> de BAP no final de três subcultivos.

Tabela 1 - Número médio de brotos e de touceiras por frasco de cultivo para os subcultivos de S2 até S4 e número médio de brotos e de mudas enraizadas por frasco de cultivo no subcultivo S5 de mudas de banana 'Maçã', conforme o tamanho do frasco e o meio de cultura.

Frasco (mL)	Subcultivo S2			
	Número de brotos		Número de touceiras	
	-----Meio-----		-----Meio-----	
	Semissólido	Líquido	Semissólido	Líquido
250	7,15 b A	10,38 a A	1,96 b A	2,54 a A
500	8,22 b A	12,15 a A	1,78 b A	2,81 a A
CV %	19,49		14,50	
	-----Subcultivo S3-----			
	Número de brotos		Número de touceiras	
	-----Meio-----		-----Meio-----	
	Semissólido	Líquido	Semissólido	Líquido
250	11,04 a A	11,27 a B	2,36 a A	2,41 a A
500	10,69 b A	13,95 a A	1,97 b A	2,40 a A
CV %	16,04		12,32	
	-----Subcultivo S4-----			
	Número de brotos		Número de touceiras	
	-----Meio-----		-----Meio-----	
	Semissólido	Líquido	Semissólido	Líquido
250	10,58 a A	11,89 a B	2,19 b B	2,82 a B
500	12,50 b A	17,76 a A	3,00 b A	3,95 a A
CV %	15,98		9,04	
	-----Subcultivo S5-----			
	Número de brotos		Número de mudas enraizadas	
	-----Meio-----		-----Meio-----	
	Semissólido	Líquido	Semissólido	Líquido
250	10,58 a A	11,89 a B	6,33 b B	9,60 a B
500	12,50 b A	17,76 a A	9,21 b A	17,35 a A
CV %	15,98		9,04	

Médias não seguidas por mesmas letras, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si em nível de 5% de probabilidade de erro no teste de Tukey.

A fase de aclimatização é extremamente importante para o sucesso das fases iniciais de desenvolvimento das mudas no campo, pois o enviveiramento proporciona maior vigor vegetativo e desenvolvimento de raízes e rizoma necessários ao desenvolvimento bem-sucedido das mudas no plantio

definitivo (SANTOS & RODRIGUES, 2004). Em relação à parte aérea e ao sistema radicular das plântulas para a aclimatização em bandejas (Tabela 3), observa-se que, apesar do número de folhas ser inferior para o tratamento meio líquido x frasco de 500mL, o comprimento da parte aérea e o diâmetro do

Tabela 2 - Porcentagem de mudas aproveitadas, número total de brotos e média de brotos por explante inicial no final do processo *in vitro* de mudas de banana 'Maçã' conforme o tamanho do frasco e o meio de cultura.

Frasco (mL)	Porcentagem de Mudas Aproveitadas (%)		Número total de brotos		Média de brotos x Explante inicial	
	-----Meio-----		-----Meio-----		-----Meio-----	
	Semissólido	Líquido	Semissólido	Líquido	Semissólido	Líquido
250	59,84	80,75	381	535	14,65	20,58
500	73,71	97,72	350	657	12,96	25,27

Médias não seguidas por mesmas letras, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si em nível de 5% de probabilidade de erro no teste de Tukey.

Tabela 3 - Número de folhas, comprimento da parte aérea, diâmetro do pseudocaule, número de raízes e comprimento da maior raiz de mudas de banana 'Maçã' após 30 dias de aclimatização em bandeja e após mais 30 dias de cultivo em sacos de polipropileno, em estufa, conforme o tamanho do frasco e o meio de cultura.

Frasco (mL)	Número de folhas		Comprimento da parte aérea (mm)		Diâmetro do pseudocaule (mm)		Número de raízes		Comprimento da maior raiz (mm)	
	-----Meio-----		-----Meio-----		-----Meio-----		-----Meio-----		-----Meio-----	
	Semissólido	Líquido	Semissólido	Líquido	Semissólido	Líquido	Semissólido	Líquido	Semissólido	Líquido
250	3,75 aA	3,65 aA	58,0 aA	61,1 aB	11,7 aA	13,2 aB	10,0 aA	9,55 aA	115,2 aA	86,8 bB
500	3,40 aA	2,95 aB	62,9 aA	69,8 aA	10,9 bA	15,0 aA	8,75 aA	10,15 aA	128,6 aA	110,2 aA
CV %	11,55		8,57		8,25		19,47		14,82	
	Número de folhas		Comprimento da parte aérea (mm)		Diâmetro do pseudocaule (mm)		Número de raízes		Comprimento da maior raiz (mm)	
	Meio		Meio		Meio		Meio		Meio	
	Semissólido	Líquido	Semissólido	Líquido	Semissólido	Líquido	Semissólido	Líquido	Semissólido	Líquido
250	5,05 aA	5,05 aA	111,6 aB	109,7 aA	10,6 a A	10,5 aA	6,80 aA	6,10 aA	138,7 aA	136,6 aA
500	4,90 aA	4,95 aA	123,3 aA	111,3 bA	10,7 aA	11,3 aA	6,25 aA	7,00 aA	132,3 aA	135,8 aA
CV %	5,92		5,48		3,81		11,83		6,70	

Médias não seguidas por mesmas letras, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si em nível de 5% de probabilidade de erro no teste de Tukey.

pseudocaule foram maiores em relação aos demais tratamentos. Para número de raízes, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e, para comprimento da maior raiz, observa-se menor desempenho do meio líquido x frasco de 250mL (Tabela 2).

Para a parte aérea e o sistema radicular das plântulas na fase de aclimatização em sacos de polipropileno (Tabela 3), o número de folhas e o diâmetro do pseudocaule foram similares entre plantas dos diferentes tratamentos. Apenas a característica comprimento da parte aérea apresentou diferenças significativas com as maiores médias para o tratamento meio semissólido x frasco de 500mL. Os tratamentos passam a apresentar comportamento similar para as características número de raízes e comprimento da maior raiz, sugerindo que, para o sistema radicular, também não há prejuízos de desenvolvimento entre os tratamentos ao final do período de aclimatização.

Avaliando a sobrevivência em casa de vegetação de plantas de bananeira das cultivares 'Caipira' (AAA), 'Preciosa' (AAAB) e 'Japira' (AAAB), COSTA et al. (2008) observaram que a sobrevivência em casa de vegetação atingiu 100% após 21 dias de cultivo em meio de enraizamento. Nesse trabalho, as mudas foram submetidas a 30 dias de enraizamento e passaram pelo procedimento de poda das raízes conforme sugerido em literatura (THOMAS & RAVINDRA, 1997), o que proporciona maior facilidade

no manejo e mais uniformidade no estande de plantas aclimatizadas. Esses fatores podem estar ligados ao bom desenvolvimento das mudas, não havendo relação com as diferenças dos tratamentos utilizados para multiplicação.

Além disso, o meio líquido apresenta vantagens de utilização em relação ao meio semissólido por dispensar prévio aquecimento para diluição do agente de solidificação, ser facilmente distribuído nos frascos de cultivo, independentemente da temperatura, e eliminar a necessidade de posicionar cada explante.

## CONCLUSÃO

O tratamento meio líquido x frasco de 500mL pode ser adotado para multiplicação *in vitro* de mudas de bananeira 'Maçã', já que foi observado maior número de mudas por explante no final da multiplicação, melhor adaptação no início da aclimatização e desempenho similar na fase final de aclimatização.

## REFERÊNCIAS

BERNARDI, W.F. et al. Micropropagação de baixo custo em bananeira cv. Maçã em meios com diferentes fontes de carbono e avaliação da performance em campo das mudas produzidas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.26, n.3, p.503-506. 2004. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_pdf&pid=S0100-29452004000300031&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S0100-29452004000300031&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em: 24 abr. 2008. doi: 10.1590/S0100-29452004000300031.

- BHAGYALAKSHMI N.; SINGH, N.S. Role of liquid versus agar-gelled media in mass propagation and *ex vitro* survival in bananas. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.41, n.1, p.71-73, 1995. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/w330652823u75107>>. Acesso em: 01 de ago. 2008. doi: 10.1007/BF00124089
- CALDAS, L.S. et al. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C. et al. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI, 1998. V.1, p.87-132
- CASER, D.V. et al. Previsões e estimativas das safras agrícolas do estado de São Paulo, ano agrícola 2007/08, 4º Levantamento, abril de 2008. **Informações Econômicas**, v.38, n.7, p.1-20, 2008. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/publicar/ieant.php>>. Acesso em: 01 ago. 2008.
- COSTA, F.H.S. et al. Relação entre o tempo de enraizamento *in vitro* e o crescimento de plantas de bananeira na aclimatização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.1, p.31-37, 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_pdf&pid=S0100-29452008000100008&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S0100-29452008000100008&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em: 26 abr. 2008. doi: 10.1590/S0100-29452008000100008.
- COSTA, F.H.S. et al. Efeito de agentes geleificantes alternativos no meio de cultura no cultivo *in vitro* de abacaxizeiro e bananeira. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.1, p.41-46, 2007. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_pdf&pid=S1413-70542007000100006&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S1413-70542007000100006&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em: 08 set. 2008. doi: 10.1590/S1413-70542007000100006.
- DINIZ, J.D.N. et al. Absorção de macronutrientes por explantes de bananeira *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.7, p.1201-1209, 1999. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_pdf&pid=S0100-204X1999000700012&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S0100-204X1999000700012&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em: 26 abr. 2008.
- ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Micropropagação fotoautotrófica e uso de luz natural. **Ciência Rural**, v.35, n.4, p.961-965, 2005. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_pdf&pid=S0103-84782005000400039&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S0103-84782005000400039&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em: 08 set. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782005000400039.
- KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F.J. Low-cost alternatives for the micropropagation of banana. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.66, n.1, p.67-71, 2001. <<http://www.springerlink.com/content/gp6874pm31487754>>. Acesso em: 08 set. 2008. doi: 10.1023/A:1010661521438.
- KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F.J. Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata* cv. 'Grande Naine'). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.55, n.2, p.141-145, 1999. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/13990j3474114124>>. Acesso em: 08 set. 2008. doi: 10.1023/A:1006119114107.
- MADHULATHA, P. et al. Influence of liquid treatment with regulators on *in vitro* propagation of banana (*Musa* spp. AAA). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.76, n.2, p.189-191, 2004. doi: 10.1023/B:TICU.0000007291.31439.6c
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, n.3, p.473-497, 1962.
- OLIVEIRA, R.P.; SILVA, S.O. Avaliação da micropropagação comercial em bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.32, n.4, p.415-420, 1997.
- OLIVEIRA, R.P. et al. Concentração de BAP e a eficiência de micropropagação de bananeira tetraplóide (Grupo AAAB). **Scientia Agrícola**, v.58, n.1, p.73-78, 2001. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_pdf&pid=S0103-90162001000100013&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S0103-90162001000100013&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em: 04 mai. 2008. doi: 10.1590/S0103-90162001000100013
- OLIVEIRA, R.P. et al. Avaliação da micropropagação de genótipos diplóides, triplóides e tetraplóides de bananeira empregando protocolo utilizado em laboratórios comerciais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.21, n.3, p.269-273, 1989.
- SÁ, M.E.L.; BRAGA, M.F. Avaliação de protocolo para obtenção de mudas micropropagadas de bananeira cv. Prata-Anã (Subgrupo AAB). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.1, p.236-239, 2002. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_pdf&pid=S0100-29452002000100050&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S0100-29452002000100050&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em: 04 mai. 2008. doi: 10.1590/S0100-29452002000100050
- SANTOS, C.C.C.; RODRIGUES, P.H.V. Variação somaclonal em mudas micropropagadas de bananeira, cultivar 'Pacovan'. **Bragantia**, v.63, n.2, p.201-205, 2004. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_pdf&pid=S0006-87052004000200005&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S0006-87052004000200005&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em: 08 mai. 2008. doi: 10.1590/S0006-87052004000200005
- SOUZA, A.S. et al. Propagação. In: ALVES, E.J. **A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. 2.ed. Brasília: Embrapa-SPI, 1999. p.151-195.
- TEIXEIRA, S.L.; TORRES, A.C. Organização do laboratório de cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, A.C. et al. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI, 1998. V.1, p.71-86.
- THOMAS, P.; RAVINDRA, M.B. Effect of pruning or removal of *in vitro* formed roots on *ex vitro* rot regeneration and growth in micropropagated grapes. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.51, n.3, p.177-180, 1997. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/t0720v828g151607>>. Acesso em: 08 mai. 2008. doi: 10.1023/A:1005928615179.