

Protocolos de assepsia e comprimento de explantes de bananeira 'Prata Anã' sobre a produção de mudas por micropropagação

Asepsis protocols and explants size of bananeira 'Prata-Anã' on the micropropagated seedling production

Sara de Almeida Rios¹

Silvia Nietsche²

Marlon Cristian Toledo Pereira³

Adelica Aparecida Xavier⁴

Thiago Prates Fernandes⁵

Márcia Maria Dias⁶

Cynthia de Lima⁷

Telma Miranda dos Santos⁸

Resumo: O aprimoramento constante dos processos de multiplicação de mudas de bananeira *in vitro* tem sido essencial para sua aceitação no mercado. O objetivo deste trabalho foi avaliar dois protocolos de assepsia na micropropagação de explantes de bananeira 'Prata-Anã'. Meristemas apicais de comprimentos 1,5 cm, 3,0 cm e 6,0 cm foram submetidos a dois protocolos de assepsia, Des1 e Des2. Após essa fase, os explantes foram cultivados em meio de cultura MS, por cinco subcultivos, em intervalos de 30 dias, no Laboratório de Cultura de Tecidos e Células Vegetais, do Campus da UNIMONTES, em Janaúba, no ano de 2005. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições. O protocolo Des2 proporcionou menores porcentagens de contaminação (45,83 %). A produção média foi de 331,42 explantes por ápice meristemático após cinco (5) subcultivos. A taxa média multiplicativa acumulada por explante viável foi de 2,85.

Palavras-chave: Musa sp. Mudas micropropagadas. Contaminação.

Abstract: The constant improvement of the banana tree *in vitro* multiplication processes has been essential for its acceptance in the market. The objective of this trial was to evaluate two asepsis protocols to the micropropagation of banana tree explants 'Prata-Anã' of distinct lengths. Meristems of 1.5 cm, 3.0 cm and 6.0 cm of length were submitted to the two protocols of asepsis, Des1 and Des2. After this, the explants were cultivated with MS medium, during five subcultures, in intervals of 30 days, on the Laboratory of Culture Tissues and Vegetables Cells, at UNIMONTES, in Janaúba, 2005. The experimental design was completely randomized, with five treatments and four replicates. The Des2 use promoted reduction in the contamination percentage (45.83%). The average number of produced plantlets was 331.42 after fifth sub-culture. The average multiplicative rate, accumulated by viable explants, was 2.85 during the culture *in vitro*, after the fifth subculture.

Key words: Common banana tree. Micropropagated seedlings. Contamination.

1 Doutoranda do programa de Genética e Melhoramento da Universidade Federal de Viçosa

2 Doutora em Genética e Melhoramento pela Universidade Federal de Viçosa, Professora da Universidade Estadual de Montes Claros

3 Doutor em Fitotecnia (Produção Vegetal) pela Universidade Federal de Viçosa, Professor da Universidade Estadual de Montes Claros

4 Doutora em Fitopatologia pela Universidade Federal de Viçosa, Professora da Universidade Estadual de Montes Claros

5 Mestrando da Universidade Federal Rural de Pernambuco

6 Mestre em Agronomia (Fitotecnia) pela Universidade Federal de Lavras

7 Graduada em Agronomia pela Universidade Estadual de Montes Claros

8 Mestranda em Fitotecnia pela Universidade Federal de Viçosa

INTRODUÇÃO

O cultivo de bananeiras exerce um importante papel sócioeconômico para a região semi-árida do norte de Minas Gerais. Atualmente, são cultivados cerca de oito mil hectares com bananeiras irrigadas (ABANORTE, 2005). Porém, a expansão para novas áreas de cultivo tem sido limitada, principalmente pela oferta insuficiente de mudas, assim como pelo baixo padrão fitossanitário das mesmas (PEREIRA *et al.*, 2005). Tendo em vista que o sistema de propagação convencional é lento e de baixo rendimento, recentes estudos têm mostrado que a adoção da micropropagação é uma boa alternativa para suprir a demanda com mudas de melhor qualidade (BERNARDI *et al.*, 2004).

A micropropagação de bananeira, ou propagação *in vitro*, consiste no cultivo de explantes em meio artificial sob condições específicas de luminosidade, temperatura e fotoperíodo. As principais vantagens desse método são: alta taxa de multiplicação em comparação aos métodos tradicionais e a alta qualidade fitossanitária das mudas (COSTA *et al.*, 2009). Dessa forma, é possível atender com maior rapidez e eficiência as necessidades dos produtores (BRAGA *et al.*, 2001). Entretanto, o êxito ou o fracasso da aplicação da micropropagação em bananeira, a exemplo de outras culturas, dependerá de diversos fatores, que devem ser controlados adequadamente durante o processo de produção das mudas. O genótipo dos cultivares multiplicados, os meios de cultura, as condições ambientais, o explante, no que diz respeito à fonte, tipo, tamanho, fase e manejo empregado, exercem forte influência nas subsequentes respostas obtidas *in vitro* (ZAFFARI *et al.*, 1995).

Israel *et al.* (1995) evidenciaram o acúmulo de informações científicas sobre a cultura de *Musa spp. in vitro*, além de progressos significativos e aplicações práticas introduzidas para o manejo da bananeira. Porém, grande parte dos trabalhos relacionados à obtenção de mudas de bananeira *in vitro* tem focado, principalmente, o tipo de explante, composição dos meios de cultura e condições físicas do ambiente que propiciam maiores taxas de multiplicação, assim como métodos distintos para o enraizamento (COSTA *et al.*, 2008; OLIVEIRA; COSTA; SCHERWINSKI-PEREIRA, 2008), sem considerar fatores como tamanho de explantes a serem utilizados para a inoculação e contaminações microbianas, as quais ocorrem em altas porcentagens durante as etapas da

micropropagação. Além disso, as informações geradas por diversos trabalhos têm apresentado respostas diferentes, principalmente quanto ao número de plântulas e brotos obtidos, quando são utilizados explantes maiores para o estabelecimento (LAMEIRA *et al.*, 1987; ORELLANA *et al.*, 1991; SANDOVAL FERNANDÉZ, 1985).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar dois protocolos de assepsia na micropropagação de explantes de bananeira 'Prata Anã' e de três comprimentos distintos sobre a contaminação e produção de plântulas.

METODOLOGIA

Rizomas de bananeira 'Prata Anã', tipo chifre, foram retirados do matrizeiro da UNIMONTES, localizado no município de Janaúba, região norte de Minas Gerais, latitude 15°48'03", longitude 43°18'33" e altitude de 533 m. Após seleção das mudas, estas foram conduzidas para a primeira etapa de limpeza mecânica, a qual consistiu na retirada das bainhas foliares e parte do seu rizoma, utilizando material cortante do tipo facão. Ao final do processo, os explantes apresentaram comprimento médio de 12, 10 e 6 cm por 3 cm de diâmetro. Em seguida, estes foram conduzidos ao laboratório de Cultura de Tecidos e Células Vegetais da UNIMONTES para serem submetidos à segunda etapa de limpeza e assepsia, efetuando-se, com auxílio de um bisturi, nova limpeza mecânica, reduzindo os explantes para comprimento de 8, 6 e 3 cm.

Após este processo, foram aplicados, de forma individualizada, dois diferentes protocolos de assepsia. O primeiro (Des 1) constou da seguinte sequência: solução de Sulfato de Estreptomicina (SSEP), (0,3 g/L), por 20 minutos; solução fungicida de Derosal (SFD), na concentração de 0,6% p.a. por 20 minutos; álcool comercial (AC), a 92,8 INPM (m/m) por 60 segundos e agitação por 25 minutos em solução de hipoclorito de sódio (HS), na concentração de 2% PV, adicionada de três gotas de tween para um litro de solução, sempre intercalando tríplex lavagem com água estéril deionizada. No segundo protocolo (Des 2), o processo foi alterado de acordo com a seguinte sequência: SSEP, por 20 minutos; SFD, por 20 minutos; AC, por 60 segundos; solução em agitação com fenol a 10%, por 10 minutos e em seguida agitação por 25 minutos em solução de HS, adicionada de três

gotas de *tween* para um litro de solução. Posteriormente, os explantes foram conduzidos à câmara de fluxo laminar para finalizar o processo de limpeza e redução. Nesta fase, os explantes destinados ao protocolo Des 2 foram mergulhados em peróxido de hidrogênio p.a., por 10 segundos.

Na câmara de fluxo laminar, os explantes foram lavados três vezes com água deionizada e autoclavada sendo submetidos à terceira etapa de limpeza mecânica, utilizando pinça e bisturi cirúrgico, deixando gemas com 1,5 cm (E1), 3 cm (E2) e 6 cm (E3) de comprimento. Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio com 8 mL do meio MS (MURASHIGUE; SKOOG, 1962) suplementado com sacarose (30 g.L⁻¹), 6-Benzilaminopurina (BAP) (7 mg.L⁻¹), carvão ativado (2,5 g.L⁻¹), Vitaminas do Witte (10 mg.L⁻¹), Mio inositol (0,1 g.L⁻¹) e Ágar (7 g.L⁻¹). Na fase de estabilização, os explantes permaneceram em ambiente totalmente escuro durante sete dias, e em seguida, foram mantidos vinte e um dias em sala de cultivo com lâmpadas fluorescentes do tipo super luz do dia de 40 Watts, intensidade luminosa de 25 W.m⁻², temperatura de 25 ± 3°C e fotoperíodo de 16 horas.

Na fase de multiplicação, foram utilizados frascos com 10 cm de altura e 6 cm de diâmetro, com 20 mL de meio MS suplementados com sacarose (30 g.L⁻¹), 6-benzilaminopurina (BAP)(7 mg.L⁻¹), vitaminas do Witte (10 mg.L⁻¹), mio inositol (0,1 g.L⁻¹) e Ágar (7 g. L⁻¹). Esta fase foi composta de cinco subcultivos, cada um com duração média de 30 dias. No primeiro subcultivo de multiplicação, os explantes E1 foram retirados e cortados longitudinalmente ao meio e as duas metades subcultivadas para novo meio. Já os explantes E2 e E3, foram cortados longitudinalmente ao meio por duas vezes, originando quatro partes. A partir do segundo subcultivo, o processo de multiplicação foi realizado por meio de subcultivos das gemas laterais, sendo efetuada a divisão longitudinal dos explantes, sempre que possível, duas, três ou quatro partes, conforme o tamanho do ápice meristemático. Em cada frasco, foram dispostos quatro segmentos de meristema.

Foram avaliadas, durante a fase de estabelecimento e multiplicação *in vitro*, as porcentagens de contaminação. Diariamente, os tubos de ensaio e frascos eram avaliados visualmente e aqueles que apresentavam crescimento microbiano foram considerados contaminados. A porcentagem de contaminação foi obtida pela razão entre número de tubos

ou frascos contaminados e o total de frascos para cada tratamento multiplicando o valor por 100 e, ao final de cada subcultivo, avaliou-se o número de explantes produzidos, obtendo-se a taxa multiplicativa para cada tratamento. Ao final do quinto subcultivo, avaliaram-se o comprimento, a partir da base até a inserção da folha vela, o diâmetro das plântulas e o número de brotos produzidos.

A princípio, o experimento foi delineado Inteiramente Casualizado em esquema fatorial 3 x 2, sendo três comprimentos de explantes, dois protocolos de assepsia e quatro repetições. Porém, a alta taxa de contaminação durante a fase de estabelecimento *in vitro*, eliminou o tratamento E3 no protocolo de assepsia Des 1. Com a exclusão de um dos tratamentos, o delineamento inteiramente casualizado foi ajustado com cinco tratamentos e quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As contaminações foram causadas exclusivamente por bactérias em todas as fases da cultura *in vitro*, apresentando coloração esbranquiçada a creme, sendo frequentes em cultura de tecidos de bananeira (OLIVEIRA *et al.*, 1999).

As maiores porcentagens de contaminação foram encontradas para os explantes de 1,5 e 3,0 cm, no protocolo de assepsia Des 1, e para o maior explante, 6,0 cm, no protocolo de assepsia Des 2, 62,5%, 75% e 62,5%, respectivamente (Tabela 1). Segundo Oliveira *et al.* (1999), em condições normais, as contaminações dos explantes de bananeira têm sido mais elevadas durante a fase de estabelecimento *in vitro* que nas demais subculturas. Lameira *et al.* (1988) obtiveram 73% de contaminação, utilizando explantes de 1,5 cm³.

A utilização do protocolo de assepsia Des 2 promoveu redução nos índices de contaminação de 62,5%, obtido com a aplicação do protocolo de assepsia Des1, para 37,5%, no explante de 1,5cm e de 75% para 37,5%, utilizando-se o explante de 3,0cm. As reduções dos índices de contaminações com a aplicação do protocolo Des2 podem ser creditadas ao uso do fenol e do peróxido de hidrogênio. O fenol, com a capacidade de alterar a permeabilidade seletiva da membrana citoplasmática, causando perda das substâncias intracelulares vitais, e o peróxido de

hidrogênio, oxidando componentes vitais da célula, influenciaram positivamente no menor índice de

contaminação durante o estabelecimento *in vitro* (PELCZAR *et al.*, 1996).

Tabela 1: Porcentagens médias de contaminação (%) nos cinco subcultivos, para os explantes E1 (1,5 cm), E2 (3 cm) e E3 (6 cm), de bananeira ‘Prata-Anã’, nos dois protocolos de assepsia, Des1 e Des2

Tratamentos	Estabelecimento <i>in vitro</i>	Subcultivos				
		1º	2º	3º	4º	5º
E1 Des 1	62,5b	6,25	0	4,13	0	0
E1 Des 2	37,5a	0	0	1,18	0	0
E2 Des 1	75b	12,5	3,03	4,45	0	0
E2 Des 2	37,5a	0	0	4,79	0	0
E3 Des 2	62,5b	0	2,05	1,43	0	0
Média	58,33	3,75	1,02	3,19	0	0

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo Teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Durante a fase de multiplicação, as taxas de contaminações foram menores, sendo, em média, de 3,75%, 1,02% e 3,19% no 1º, 2º e 3º subcultivos, respectivamente, não havendo, ainda, contaminações para os dois últimos (Tabela 1). Estes valores foram bastante inferiores aos 18,90% obtidos por Oliveira; Machado (1997). As porcentagens de contaminação aumentaram no terceiro subcultivo, em relação ao primeiro e segundo subcultivos (Tabela 1). Segundo Leifert; Woodward (1998) algumas estirpes dos contaminantes não crescem prontamente no meio de cultura até que determinadas condições, nutrição e

pH, sejam favoráveis ao seu desenvolvimento, tornando-se uma fonte importante de contaminação nos estádios mais avançados de multiplicação do material vegetal.

A produção média de explantes, por ápice meristemático, foi de 331,42 após os cinco subcultivos (Tabela 2). Mendes *et al.* (1996) obtiveram, em média, 676 plantas/explante para a variedade Nanicão, após seis subcultivos, enquanto Oliveira *et al.* (1999) obtiveram 190 plântulas/explante viável, após o mesmo período e utilizando a mesma variedade.

Tabela 2 - Número de explantes de bananeira ‘Prata-Anã’ do primeiro até o quinto subcultivo, para os explantes E1 (1,5 cm), E2 (3 cm) e E3 (6 cm), nos dois protocolos de assepsia, Des1 e Des2

Tratamento	Número de explantes Subcultivos				
	1	2	3	4	5
E1Des1	4 b	10,75 b	58,88 a	108 b	264,25 a
E1Des2	4 b	12,79 b	78,71 a	146,88 b	347,08 a
E2Des1	12,25 a	67 a	76,5 a	221,25 a b	374,75 a
E2Des2	14,63 a	67,54 a	88,04 a	269,25 a	408,5 a
E3Des2	15,87 a	58,88 a	70,5 a	209,5 a b	262,5 a
CV (%)	33,31	27,72	21,84	28,41	32,25

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo Teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os explantes com 3 e 6 cm de comprimento, proporcionaram maior acúmulo de plântulas até o segundo subcultivo (Tabela 2). Porém, considerando-se o terceiro e quinto subcultivos, não foram detectadas diferenças significativas para número de

plântulas produzidas, em função do comprimento do explante utilizado. Zaffari *et al.* (1995) observaram que a utilização de explantes grandes (7 a 8 mm) de ‘Grand Nainé’ resultou em aumento na taxa regenerativa.

Houve aumento do número de explantes com o avanço dos subcultivos (Tabela 2). Segundo Angarita; Perea (1991) e Israeli et al., (1991), este crescimento exponencial do número de plântulas continua nas subculturas posteriores à sexta geração, e poderia representar aumento substancial no número de mudas produzidas por matriz, não fosse a ocorrência de variação somaclonal.

A taxa média multiplicativa acumulada por explante viável foi de 2,8, durante o cultivo *in vitro*, independente do tratamento utilizado (Tabela 3). Segundo Banerjee; De Langhe (1985), Vuylsteke; De Langhe (1985) e Wong (1986), citados por Oliveira et al. (2000), a taxa de multiplicação representa, em geral, produção de 2 a 10 plântulas por subcultivo de 4

a 5 semanas. No entanto, segundo Jarret et al. (1985) podem ser obtidas até 31 plântulas por subcultivo.

Para o primeiro subcultivo, o explante E2 proporcionou maior taxa média multiplicativa, 5,15, independente do protocolo de assepsia utilizado, porém, a taxa para o segundo subcultivo foi reduzida para uma média de 1,24. Isto pode ser devido a uma aceleração na fase de crescimento ativo destes explantes, advinda das altas taxas multiplicativas no subcultivo anterior. Segundo Grattapaglia; Machado (1998), se uma planta entra, precocemente, nesta fase de crescimento ativo, é provável que com três semanas ela entre em senescência ou não apresente mais a mesma taxa de proliferação anterior.

Tabela 3 - Taxas multiplicativas durante o cultivo *in vitro* de bananeira 'Prata-Anã' nos subcultivos um, dois, três e quatro, para os explantes E1 (1,5 cm), E2 (3 cm) e E3 (6 cm), nos dois protocolos de assepsia, Des1 e Des2

Tratamento	Taxa multiplicativa Subcultivos							
	1		2		3		4	
E1Des1	2,69	c	5,43	a	1,82	b	2,43	a
E1Des2	3,2	b c	6,15	a	1,88	b	2,36	a
E2Des1	5,62	a	1,15	b	2,89	a	1,68	b
E2Des2	4,71	a b	1,33	b	3,05	a	1,51	b
E3Des2	3,78	a b c	1,21	b	2,95	a	1,19	b
CV (%)	21,12		12,25		12,98		14,57	

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo Teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A Tabela 4 ilustra o comprimento e o diâmetro das plântulas e o número de brotos produzidos, após o quinto subcultivo. Os explantes E2 e E3 proporcionaram plântulas de maior comprimento e diâmetro, independente do protocolo de assepsia utilizado. Porém, não houve diferença estatística para

o número de brotos produzidos ao final do quinto subcultivo. Este resultado está de acordo com aqueles obtidos por Lameira et al. (1988), quando, trabalhando com 'Prata' e 'Nanicão', relataram que o tamanho do explante não influenciou no número de brotos formados.

Tabela 4 - Comprimento, a partir da base até a inserção da folha vela, diâmetro das plântulas e número de brotos produzidos a partir de explantes de bananeira 'Prata-Anã', E1 (1,5 cm), E2 (3 cm) e E3 (6 cm), nos dois protocolos de assepsia, Des1 e Des2, após o quinto subcultivo

Tratamento	5º Subcultivo					
	Comprimento		Diâmetro		Brotos	
E1Des1	9,98	b	3,55	b	8,4	a
E1Des2	11,43	b	3,65	b	8,15	a
E2Des1	18,68	a	4,63	a	8,25	a
E2Des2	17,78	a	4,43	a	7,95	a
E3Des2	18,05	a	4,88	a	7,88	a
CV (%)	15,3		7,24		19,07	

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo Teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Embora as porcentagens de contaminação na fase de multiplicação tenham sido menores com o uso do protocolo Des 2, não houve diferença estatística para o número de explantes produzidos após o quinto subcultivo. O uso do fenol e do peróxido de hidrogênio possibilitou a redução nos índices de contaminação, porém pode ter afetado também as células vegetais, prejudicando o desempenho das plântulas.

A maior porcentagem de contaminação, de 12,5%, foi encontrada no primeiro subcultivo, para o explante de 3 cm, utilizando-se o protocolo de descontaminação 1. Porém, este tratamento foi o que apresentou a maior taxa multiplicativa, de 5,6. Isto pode estar relacionado à presença de microrganismos benéficos nos tecidos vegetais (PEIXOTO NETO et al.; 2006).

CONCLUSÕES

A utilização de fenol e peróxido de hidrogênio na assepsia de explantes de bananeira ‘Prata-Anã’ foi mais eficiente na redução da porcentagem de contaminação durante a micropropagação. Explantes de 3,0 e 6,0 cm proporcionaram maiores médias de produção de plântulas por explante.

REFERÊNCIAS

- ABANORTE. Desempenho da fruticultura mineira em 2004. Disponível em: <<http://www.abanorte.com.br/fruticultura>>. Acesso em: 29 dez. 2005.
- ANGARITA, A.; PEREA, M. Micropropagación de plátanos y bananos. In: ROCA, W.M.; MROGINSKI, L.A. (Eds.) Cultivo de tejidos en la agricultura. Cali: CIAT, 1991. p.495-512.
- BERNARDI, W. R. 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.
- BRAGA, M. F; LISEI DE SA, M. E; MUSTAFÁ, P. C. Avaliação de um protocolo para multiplicação *in vitro* da bananeira (*Musa sp.*) cv. caipira (AAA). Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 215-219, 2001.
- 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.
- COSTA, F. H. S. et al. Alterações anatômicas de bananeiras micropropagadas em resposta a aclimatização *ex vitro*. Ciência Rural, v. 39, n. 2, p. 386-392, 2009.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A (Eds). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: EMBRAPA/SPI, 1998. p. 183-260.
- ISRAELI, Y.; REUVENI, O; LAHAV, E. Qualitative aspects of somaclonal variation by *in vitro* techniques. Scientia Horticulturae, Amsterdam, v. 48, p. 71-88, 1991.
- ISRAELI, Y.; LAHAV, E.; REUVENI, O. *In vitro* culture of bananas. In: GOWEN, S., (Ed.) Bananas and plantains, London: Champman & Hall, 1995. cap. 6, p. 147-178.
- JARRET, R.L.; RODRIGUEZ, W.; FERNANDEZ, R. Evaluation, tissue culture, propagation and dissemination of ‘Saba’ and ‘Pelipita’ plantains in Costa Rica. Scientia Horticulturae, Amsterdam, v.25, p.137-147, 1985.
- LAMEIRA, O.A. Propagação *in vitro* da bananeira *Musa sp.* através da cultura de ápice caulinar. 1987. 39f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras.
- LAMEIRA, O.A.; PINTO, J.E.B.P.; PASQUAL, M. Efeito do tamanho do explante no desenvolvimento *in vitro* da bananeira (*Musa acuminata* Colla) cultivares prata e nanicão. Ciência Prática, Lavras, v.12, n.2, p.207-211, 1988.
- LEIFERT, C.; WOODWARD, S. Laboratory contamination management: the requirement for microbiological quality assurance. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, Dordrecht, v. 52, p. 83-88, 1998.
- MENDES, B.M.J. et al. Efficacy of banana plantlet production by micropropagation. Pesquisa Agro-

pecuária Brasileira, Brasília, v.31, n.12, p.863-867, 1996.

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

OLIVEIRA, R. P.; MACHADO, C.L. Avaliação de protocolo de micropropagação massal em bananeira do subgrupo Prata (*Musa spp.*, grupo AAB). *Revista Agropecuária de Fruticultura*. Cruz das Almas, v.19, n.2, p.415-226, 1997.

OLIVEIRA, R. P.; SILVEIRA, D.G.; OLIVEIRA e SILVA, S. Efeito de desinfestação e do uso de meios indicadores de contaminação na micropropagação de bananeira. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 57-61, 2000.

OLIVEIRA, J. P.; COSTA, F.H.S.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Micropropagation and estimates of banana plantlets production for Western Amazon. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43, n. 10, p. 1429-1432, 2008.

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*, Jaboticabal, v. 21, n. 3, p. 269-273, 1999.

ORELLANA, P. et al. La micropropagación del plátano a escala comercial en Cuba. *ACEVIV*, 1991. p.29-38 (*Boletín Científico*, 3).

PEIXOTO NETO, P.A.S.; AZEVEDO, J.L.; ARAÚJO, W.L. Microrganismos endofíticos: Interação com plantas e potencial biotecnológico. Disponível em: <<http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio29/micro.asp>>. Acesso em: 02 fev. 2006.

PELCZAR, M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. *Microbiologia: conceitos e aplicações*. 2 ed. São Paulo. 1996, p. 210-228.

PEREIRA, M. C. T. et al. Aclimatização de mudas micropropagadas de bananeira sob diferentes condições de luminosidade. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 27, n. 2, p. 238-240, 2005.

SANDOVAL FERNANDÉZ, J. A. Micropropagación de musáceas. *Asbana*, São Jose, v.9, n.24, p.21-23, 1985.

ZAFFARI, G. R.; SOLIMAN FILHO, L. F.; TUKER, H. Efeito do tamanho do explante e da quebra da dominância apical sobre a brotação das gemas laterais na produção de mudas de bananeira *in vitro*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Cruz das Almas, v.17, n.1, p.37-42, 1995.