

CONCENTRAÇÃO DE BAP E A EFICIÊNCIA DE MICROPROPAGAÇÃO DE BANANEIRA TETRAPLÓIDE (GRUPO AAAB)

Roberto Pedroso de Oliveira^{1*}; Daniela Garcia Silveira²; Sebastião de Oliveira e Silva²

¹Embrapa Clima Temperado, C.P. 403 - CEP: 96001-970 - Pelotas, RS.

²Embrapa Mandioca e Fruticultura, C.P. 007 - CEP: 44380-000 - Cruz das Almas, BA.

*Autor correspondente <rpedroso@cena.usp.br>

RESUMO: Com o objetivo de desenvolver um procedimento eficiente para a produção de mudas de bananeiras tetraplóides (*Musa* sp. cv. FHIA-01, grupo AAAB) estudou-se o efeito do clone no desenvolvimento *in vitro* dos explantes e as taxas de contaminação, multiplicação e nível de oxidação em meios de cultura contendo cinco concentrações de BAP. Na fase de introdução *in vitro* dos explantes, foi observada elevada taxa de contaminação (22,32%), causada, principalmente, por bactérias. No entanto, os níveis de contaminação decresceram na seqüência dos subcultivos, tendo sido de 1,07% no oitavo subcultivo. As maiores taxas de multiplicação foram obtidas no meio de cultura MS com 4,0 mg L⁻¹ de BAP, em média de 2,65 plântulas por subcultivo, possibilitando a produção estimada de 584 plântulas de FHIA-01 por explante inicial no sexto e 3451 no oitavo subcultivo. Em função do clone, houve a produção estimada de 305 a 4497 plântulas por explante inicial, após oito subculturas. A eficiência de aclimatização das plântulas foi de 94%, não sendo encontrados variantes somacloniais em condições de casa-de-vegetação.

Palavras-chave: *Musa* sp., concentrações de BAP, propagação *in vitro*, tetraplóide (grupo AAAB)

BAP CONCENTRATION AND TETRAPLOID BANANA MICROPROPAGATION EFFICIENCY (AAAB GROUP)

ABSTRACT: The objective of the present work was to establish an efficient procedure for the *in vitro* production of tetraploid banana plantlets (*Musa* sp. cv. FHIA-01, AAAB group). The cloning effect on the *in vitro* development of the explants, the rates of contamination and multiplication, and the level of oxidation in culture media with five benzylaminopurine (BAP) concentrations were studied. In the phase of *in vitro* introduction of explants, a high level of contamination (22.32%), caused mainly by bacteria, was observed. However, the degree of contamination decreased along the subcultures, reaching 1.07% in the eighth subculture. Higher multiplication rates were obtained, averaging 2.65 per subculture, on the MS media supplemented with 4.0 mg L⁻¹ BAP, leading to an estimated production of 584 and 3451 plantlets/initial explant after the 6th and 8th subculture, respectively. A pronounced effect of the cloning on multiplication was observed. Acclimatization efficiency of plantlets was 94%. Somaclonal variations were not observed among *in vitro* micropropagated plantlets under greenhouse conditions.

Key words: *Musa* sp., different concentration of BAP, *in vitro* propagation, tetraploid (AAAB group)

INTRODUÇÃO

A cultura da bananeira é de grande importância econômica e social para o Brasil, que é o 2º produtor mundial (FAO, 1998). Nos últimos anos, motivada pela ampliação do mercado consumidor e consequente elevação de preço da banana, tem ocorrido a expansão da cultura em vários estados brasileiros, principalmente em pólos de fruticultura irrigada da Bahia, Minas Gerais, Rio Grande do Norte e São Paulo. Este fato vem causando uma grande procura por mudas de alta qualidade genética e fitossanitária, visando a produção de frutos de qualidade.

As cultivares de bananeira apresentam uma lenta taxa de multiplicação no campo, que varia de 5 a 10 mudas/planta matriz/ano (Vuylsteke & De Langhe, 1985). Entretanto, segundo Oliveira & Silva (1997), são obtidas mais de 200 mudas/planta matriz/8 meses por meio de cultura de tecidos. Por isso, a multiplicação *in vitro* consiste

na melhor alternativa para se obter quantidade suficiente de mudas para o estabelecimento de novos plantios, principalmente com cultivares/híbridos recém lançados por Centros de Pesquisa. Além desse aspecto, as mudas micropropagadas apresentam as vantagens de serem multiplicadas em qualquer época do ano, em pequeno espaço físico; serem isentas de patógenos e pragas, necessitando serem checadas no caso de viroses; proporcionarem uma homogeneidade nos tratos culturais e colheita devido a sua uniformidade; e por promoverem aumento na produção (Angarita & Perea, 1991; Orellana et al., 1991; Sanada, 1993; Oliveira & Silva, 1997).

Na literatura, existe uma série de trabalhos sobre micropropagação de bananeira e qualidade genética e fitossanitária das mudas produzidas (Cronauer & Krikorian, 1984; Wong, 1986; Vuylsteke et al., 1988; Cote et al., 1989; Angarita & Perea, 1991; Evans & Sharp, 1991; Israeli et al., 1991; Orellana et al., 1991; Sanada, 1993; Oliveira

& Silva, 1997), no entanto esses trabalhos se referem a um número limitado de cultivares. Segundo Banerjee & De Langhe (1985), Vuylsteke & De Langhe (1985) e Wong (1986), as taxas de multiplicação *in vitro* dos explantes de bananeira são bastante variáveis em função do genótipo utilizado, havendo, portanto, a necessidade de ajustes metodológicos para maximizar o sistema de micropropagação.

O cultivar de bananeira tetraplóide FHIA-01 foi obtida pelo programa de melhoramento da Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA), em Honduras, sendo tolerante à sigatoka negra e a nematóides, resistente às raças 1 e 4 do mal-do-panamá, tendo boa arquitetura da planta e alta qualidade de fruto (FHIA, 1993), sendo, portanto, promissora a sua exploração comercial no Brasil.

Embora a 'FHIA-01' seja multiplicada em países como Honduras e Cuba, existem poucos relatos sobre o desenvolvimento *in vitro* desse cultivar e de outros materiais híbridos de natureza tetraplóide (Pocasangre et al., 1994), que vem sendo obtidos nos programas de melhoramento conduzidos em Honduras e no Brasil.

Este trabalho teve por objetivo desenvolver um procedimento eficiente para a produção de mudas de bananeiras tetraplóides (*Musa* sp. cv. FHIA-01) para utilização em laboratórios comerciais de cultura de tecidos.

MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal utilizado foi o cultivar FHIA-01 (*Musa* sp., Grupo AAAB), sendo as matrizes coletadas no banco de germoplasma de bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas-BA. Em setembro de 1995, foram coletadas 110 matrizes com diâmetro médio da base do pseudocaule de 10 cm (Jarret et al., 1985). Primeiramente, foi realizada a limpeza do material através de uma série de cortes, removendo-se parte dos rizomas e pseudocaules até o tamanho aproximado de 5,0 cm de altura por 1,5 cm de diâmetro. A desinfestação foi realizada imergindo grupos de 5 explantes em álcool comercial a 90% por 2 minutos, seguindo-se de imersão em solução de hipoclorito de cálcio 6%, contendo algumas gotas de Tween 20, por 30 minutos sob agitação. Em seguida, foram realizadas 3 lavagens com água destilada deionizada em câmara de fluxo laminar e reduzidos os explantes, com auxílio de pinça e bisturi, até o tamanho final de 0,6 cm de altura por 0,4 cm de diâmetro.

O estabelecimento do material foi realizado em meio nutritivo MS básico (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 1,8 g L⁻¹ de 'Phytigel', pH 5,7; a multiplicação dos explantes (subcultivos 1 a 8) no mesmo meio de cultura suplementado com diferentes concentrações de benzilaminopurina (BAP) (0; 2,5; 4,0; 5,0 e 7,5 mg L⁻¹); e o enraizamento em meio MS com metade da concentração de sais minerais, suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose,

solidificado com 'Phytigel', na ausência de reguladores de crescimento. Os explantes foram dispostos sobre 20 mL de meio de cultura, em frascos com 10 cm de altura por 6 cm de diâmetro.

O processo de multiplicação foi realizado por meio de subcultivos das gemas laterais, sendo efetuada a subdivisão longitudinal dos explantes sempre que possível (Cronauer & Krikorian, 1984). Os subcultivos de 1 a 8 foram realizados a cada 30 dias e o enraizamento em 20 dias. No subcultivo 0, foram utilizadas 22 repetições por tratamento; nos subcultivos 1 a 3 todas as plântulas obtidas durante a multiplicação e nos subcultivos posteriores foram utilizados no máximo 60 explantes escolhidos ao acaso para cada tratamento. As plântulas obtidas durante as subculturas que não foram repicadas foram submetidas a aclimatação.

A multiplicação *in vitro* foi realizada sob condições de temperatura de 24 ± 4°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 2000 lux. Após o enraizamento *in vitro*, as plântulas foram transferidas para casa-de-vegetação em saquinhos plásticos de 300 cm³, contendo substrato composto por areia, matéria-orgânica e vermiculita (1:1:1), permanecendo 15 dias em condições de umidade relativa de 85% e 60% de sombreamento; 45 dias em estufa de cobertura plástica; e 20 dias sob condições de ambiente natural para completar a aclimatização das plantas.

Posteriormente a este experimento, foi utilizada a mesma metodologia para se estudar o desenvolvimento *in vitro* de 7 clones de 'FHIA-01' (clones A, B, C, D, E, F e G) ao longo de 8 subculturas. Estes clones de 'FHIA-01' foram coletados no campo de multiplicação de bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura ao acaso, sendo fenotipicamente idênticos.

Foram avaliadas, em cada subcultivo, as perdas por contaminação, nível de oxidação e as taxas de multiplicação absoluta (número de brotos que foram obtidos por explante inicial em cada subcultivo de 30 dias) e acumulada (número total de brotos obtidos desde o estabelecimento até o subcultivo em estudo, por explante inicial). As taxas médias de contaminação ao longo dos subcultivos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Foi realizada a análise de regressão polinomial para estudar o comportamento das taxas de multiplicação em função do nível de BAP. Foram calculados a variância e o coeficiente de variação das taxas de multiplicação de clones de 'FHIA-01' submetidos a uma mesma condição de cultura.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observadas percentagens de contaminação que variam de 1,07 a 22,32% em função do subcultivo, apresentando uma média geral de 12,53% (TABELA 1). As percentagens de contaminação são elevadas se comparadas às observadas em laboratórios comerciais da Costa Rica com níveis de contaminação que variam de 3 a 5% (Sandoval et al., 1991) e de Cuba com 3 a 15% (Leifert et al., 1994).

A percentagem de contaminação tende a apresentar uma redução à medida que vão sendo realizados os subcultivos, inclusive havendo diferenças ao nível de 5% de probabilidade (TABELA 1). Trabalhos conduzidos por outros autores em empresas de micropropagação mostram a mesma tendência, uma vez que nos subcultivos posteriores ao estabelecimento o material é contaminado apenas por erros de manipulação

TABELA 1 - Taxas de contaminação ao longo de 8 subcultivos *in vitro* do cultivar de bananeira FHIA-01, independentemente do nível de BAP utilizado no meio de cultura. Cruz das Almas-BA, 1999.

Nº subcultivo	Taxa de contaminação	
	Média original (%)	Média transformada arc senv $\sqrt{x}/100$
0 (Estabelecimento)	22,32	14,42 a
1	21,58	13,53 a
2	15,24	6,91 abc
3	18,99	10,59 ab
4	12,40	4,61 abc
5	8,91	2,40 abc
6	7,73	1,81 abc
7	4,52	0,62 bc
8	1,07	0,03 c
Média geral	12,53	
DMS (Tukey 5%)		15,93
CV (%)		40

CV = Coeficiente de variação.

TABELA 2 - Taxas de multiplicação *in vitro* absoluta e acumulada por explante inicial de bananeira cv. FHIA-01 ao final de 8 subcultivos em meio de cultura contendo diferentes níveis de BAP. Cruz das Almas-BA, 1999.

Nº subcultivo	Taxa de multiplicação absoluta (acumulada) / explante inicial				
	Nível de BAP				
	0	2,5	4,0	5,0	7,5
mg L^{-1}					
0 (Inoculação)	1,32 (1,321)	1,32 (1,32)	1,32 (1,32)	1,32 (1,32)	1,32 (1,32)
1	1,56 (2,06)	2,88 (3,80)	1,56 (2,06)	3,00 (3,96)	1,68 (2,22)
2	1,92 (3,95)	3,72 (14,14)	4,56 (9,39)	2,81 (11,13)	3,63 (8,05)
3	1,51 (5,97)	2,72 (38,47)	3,33 (31,27)	2,74 (30,49)	3,07 (24,71)
4	2,25 (13,43)	2,70 (103,86)	2,66 (83,17)	2,49 (75,92)	2,14 (52,89)
5	1,29 (17,33)	2,43 (252,38)	3,62 (301,09)	2,68 (203,46)	4,96 (262,32)
6	1,18 (20,44)	2,51 (633,46)	1,94 (584,12)	1,59 (323,51)	0,88 (230,84)
7	1,56 (31,90)	2,55 (1615,33)	2,18 (1273,37)	3,00 (970,52)	2,47 (570,17)
8	2,16 (68,90)	1,90 (3069,13)	2,71 (3450,84)	2,55 (2474,83)	2,47 (1408,32)
Média	1,64	2,53	2,65	2,46	2,51

¹A taxa de multiplicação acumulada foi estimada.

e ao fato do emprego de 'Phytigel' promover a rápida identificação e eliminação do material contaminado, evitando a sua multiplicação (Oliveira & Silva, 1997). As contaminações foram causadas quase que exclusivamente (em mais de 90% dos casos) por bactérias de coloração esbranquiçada tanto na fase de inoculação como nos subcultivos posteriores.

A oxidação dos explantes é outro fator limitante à micropropagação (Banerjee & De Langhe, 1985; Jarret et al., 1985; Vuylsteke & De Langhe, 1985; Acuña, 1995). No caso da cv. FHIA-01, não ocorreram níveis acentuados de oxidação, os quais foram maiores na fase de estabelecimento dos explantes e no subcultivo 1, e sempre na fase inicial de cada subcultura.

A taxa média de multiplicação *in vitro* do cultivar de bananeira FHIA-01 variou de 1,64 a 2,65, em função da concentração de BAP utilizada no meio de cultura, ao longo dos 8 subcultivos realizados (TABELA 2). Segundo Banerjee & De Langhe (1985), Vuylsteke & De Langhe (1985) e Wong (1986), a taxa de multiplicação apresenta uma grande variação em função do genótipo, sendo, em geral, obtidas 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.

Por meio da análise da curva de regressão, (Figura 1) estima-se que na concentração aproximada de 4,9 mg L⁻¹ BAP ocorre a maior taxa de multiplicação de plântulas de bananeira. Além da taxa de multiplicação, o desenvolvimento *in vitro* das plântulas também deve ser considerado para escolha da melhor concentração de BAP. A altura das plântulas durante a multiplicação foi inversamente proporcional à concentração de BAP. Desta forma, as plântulas obtidas nas concentrações de BAP

de 5,0 mg L⁻¹ e, principalmente, de 7,5 mg L⁻¹, apresentaram tamanho reduzido, sempre inferior a 1,5 cm. Estas plântulas pequenas não são desejáveis no processo de micropopragação por necessitarem sofrer um alongamento antes do enraizamento, a fim de que não haja perdas elevadas na aclimatização. Wong (1986) verificou que em algumas cultivares, como Williams (AAA) e Bluggoe (ABB), ocorria a proliferação de uma grande quantidade de pequenas plântulas, as quais podem originar-se a partir de gemas adventícias, sendo, segundo Banerjee & De Langhe (1985), mais sujeitas à variação somaclonal.

No meio de cultura MS suplementado com 4,0 mg L⁻¹ de BAP, ocorreram taxas aceitáveis de multiplicação, proporcionando a obtenção de plântulas com baixo nível de oxidação, coloração verde acentuada, formação de poucas raízes e altura média em torno de 3 cm, sendo, portanto, a concentração recomendada, entre as avaliadas, para a multiplicação *in vitro* de bananeira deste cultivar nas condições utilizadas no trabalho.

No meio de cultura em que foi adicionado 2,5 mg L⁻¹ de BAP, a taxa média de multiplicação foi de 2,53 por subcultivo, havendo a produção de plântulas com altura média de 4,0 cm, com formação pronunciada de raízes no final do subcultivo.

Existem poucos relatos sobre micropopragação de cultivares tetraplóides do grupo AAAB. Pocasangre et al. (1994) obtiveram taxas de multiplicação de 1,02, 2,27 e 2,07 nos 3 primeiros subcultivos do cultivar FHIA-01.

Em geral, as concentrações de 2,5 a 5,0 mg L⁻¹ de BAP são as mais utilizadas para a micropopragação de bananeira, dependendo do genótipo e condições de cultivo (Banerjee & De Langhe, 1985; Vuylsteke & De Langhe, 1985; Cronauer & Krikorian, 1986; Vuylsteke, 1989; Oliveira & Silva, 1997).

No meio de cultura MS sem reguladores de crescimento, foi obtida uma taxa média de multiplicação de 1,64 por subcultivo (TABELA 2). Este fato demonstra que, para o cultivar FHIA-01, a condição de cultivo *in vitro* associada à quebra da dominância apical pela realização da subdivisão do explante possibilita a sua multiplicação em níveis superiores aos obtidos em campo. As plântulas

obtidas desta maneira são vigorosas e apresentam sistema radicular bastante desenvolvido. Wong (1986), por outro lado, trabalhando com 9 cultivares de diferentes grupos genômicos, inclusive com tetraplóides (IC2 e 2390-2, ambas do grupo AAAA), não obteve multiplicação de plantas na ausência de citocininas. A multiplicação de plantas sem reguladores de crescimento é importante nos casos em que se deseja diminuir os riscos de variação somaclonal, pois o BAP é um dos principais agentes causadores de alterações genotípicas (Smith, 1988).

Segundo Banerjee & De Langhe (1985), as maiores taxas de multiplicação ocorrem da 3^a a 6^a subcultura para a maioria das cultivares, dados que concordam com os obtidos no presente trabalho. Utilizando-se a concentração de BAP de 4,0 mg L⁻¹, foi estimada uma produção média de 584 plântulas no sexto e de 3451 plântulas no oitavo subcultivo (TABELA 2). Na fase de estabelecimento e no subcultivo 1, observou-se uma taxa pequena de multiplicação, devido à adaptação dos explantes à condição de cultura.

Existe grande diferença com relação ao desenvolvimento dos explantes em função do clone utilizado na micropopragação. Com base na taxa média de multiplicação, foi estimada a produção de 410 plântulas no 6^º subcultivo e 4497 no 8^º subcultivo utilizando-se o clone "E", ao passo que utilizando o clone "F" foi estimada apenas a produção de 58 plântulas no 6^º e 305 no 8^º subcultivo nas mesmas condições de cultura (TABELA 3). Mendes et al. (1996) avaliaram o comportamento de 9 clones de bananeira cv. Nanicão (AAA) e observou a produção de 143 a 1850 plantas no sexto subcultivo, obtendo uma média de 676 plântulas para os clones estudados. Estes resultados demonstram a necessidade de que sejam selecionados clones para a multiplicação *in vitro* com alto potencial de multiplicação.

Foi encontrado um alto coeficiente de variação, devido a dificuldade de se padronizarem os explantes utilizados nas subculturas, quanto ao tamanho e forma do explante, tipo de corte realizado e estado fisiológico do tecido (Angarita & Perea, 1991).

Na aclimatização, foram observadas perdas inferiores a 6%, utilizando plântulas de bananeira provenientes do meio de cultura MS suplementado com 4 mg L⁻¹ BAP. Alguns ajustes na umidade relativa do ar e luminosidade da casa-de-vegetação podem ser realizados para reduzir estas perdas.

Durante o desenvolvimento das mudas em casa-de-vegetação, não foram observados variantes somaclonais. Desta forma, as condições propostas para a produção de mudas de bananeira FHIA-01 foram bastante favoráveis a propagação deste cultivar.

Segundo Vuylsteke et al. (1991), a taxa de ocorrência de variação somaclonal em campo de plantas micropopragadas varia de 0 a 69%, em função do cultivar e condições de cultura. Estudos posteriores devem ser realizados para determinar a percentagem de variantes somaclonais a nível de campo das mudas de FHIA-01 micropopragadas.

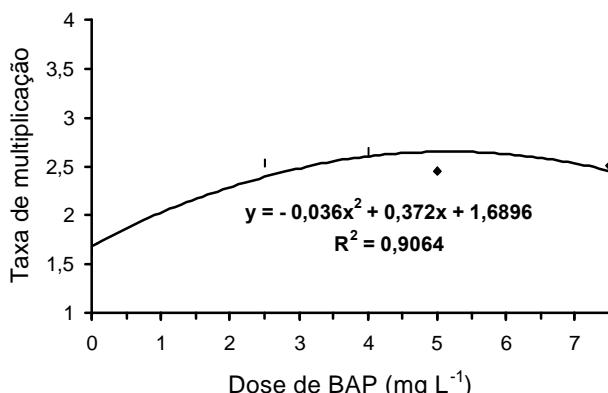


Figura 1 - Curva de regressão para a taxa de multiplicação *in vitro* de bananeira cv. FHIA-01 em função da dose de BAP, independente do subcultivo.

TABELA 3 - Taxas de multiplicação *in vitro* absoluta e acumulada por explante inicial de 7 clones de bananeira cv. FHIA-01 obtidas ao final de 8 subcultivos em meio de cultura MS suplementado com 4 mg L⁻¹ BAP. Cruz das Almas-BA, 1999.

Clone	Taxa de multiplicação absoluta (acumulada) / explante inicial									
	Inicial	1	2	3	4	5	6	7	8	Subcultura
A	1,00(1 ¹)	1,00 (1)	5,00 (5)	4,10 (21)	2,50 (51)	2,23 (114)	2,53 (289)	4,10 (1186)	1,43 (1695)	
B	1,00 (1)	2,00 (2)	1,60 (3)	5,10 (16)	1,80 (29)	4,43 (130)	2,55 (332)	2,41 (800)	4,27 (3415)	
C	1,00 (1)	2,00 (2)	3,00 (6)	2,27 (14)	2,96 (40)	4,35 (175)	2,65 (465)	2,60 (1208)	1,57 (1897)	
D	1,00 (1)	2,00 (2)	3,00 (6)	1,43 (9)	1,83 (16)	2,85 (45)	2,43 (109)	2,37 (258)	2,42 (624)	
E	1,00 (1)	1,00 (1)	2,00 (2)	6,10 (12)	2,75 (34)	3,54 (119)	3,45 (410)	3,20 (1311)	3,43 (4497)	
F	1,00 (1)	2,00 (2)	3,00 (6)	1,93 (12)	1,40 (16)	2,65 (43)	1,34 (58)	2,10 (121)	2,52 (305)	
G	1,00 (1)	2,00 (2)	2,50 (5)	2,50 (13)	3,28 (41)	3,23 (132)	1,58 (209)	1,65 (345)	2,52 (870)	
Média	1,00 (1)	1,71(2)	2,87 (5)	3,35 (16)	2,36 (39)	3,33 (129)	2,36 (305)	2,63 (802)	2,59 (2077)	
Variância ²	0	0,24	1,18	3,13	0,48	0,70	0,50	0,64	0,99	
CV (%) ²	0	28	21	53	29	25	30	30	38	

¹A taxa de multiplicação acumulada foi estimada.

²Variância e coeficiente de variação relativos à taxa de multiplicação absoluta.

CONCLUSÕES

- As taxas de contaminação *in vitro*, causadas por fungos e bactérias, são elevadas na micropropagação massal de bananeira, apresentando uma média de 12,53% por subcultivo.
- As taxas de contaminação são maiores na fase de estabelecimento *in vitro*, tendendo a uma redução à medida que vão sendo realizados os subcultivos.
- As principais contaminações na micropropagação de bananeira são de origem bacteriana.
- O oxidação dos explantes é maior na fase de estabelecimento, no primeiro subcultivo e nas fases iniciais de cada subcultura, não comprometendo, porém, a multiplicação de bananeiras tetraplóides.
- O meio de cultura MS suplementado com 4,0 mg L⁻¹ de BAP é o mais recomendado para a micropropagação de bananeiras tetraplóides do grupo AAAB cv. FHIA-01, possibilitando, em média, a obtenção de 2,65 plântulas por subcultivo, ou seja, a produção estimada de 584 plântulas por explante inicial no sexto e 3451 no oitavo subcultivo.
- O clone de bananeira apresenta um efeito pronunciado na taxa de multiplicação.
- A eficiência de aclimatização de plântulas de bananeira tetraplóide é de 94%, não havendo a produção de variantes somacloniais em condições de casa-de-vegetação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACUÑA, P.I. Micropropagación de banano a partir de ápices vegetativos. *Corbana*, v.17, p.9-12, 1995.
- ANGARITA, A.; PEREA, M. Micropropagación de plátanos y bananos. In: ROCA, W.M.; MROGINSKI, L.A. (Ed.) *Cultivo de tejidos en la agricultura*. Cali: CIAT, 1991. p.495-512.
- BANERJEE, N.; DE LANGHE, E. A tissue culture technique for rapid clonal propagation and storage under minimal growth conditions of *Musa* (banana and plantain). *Plant Cell Reports*, v.4, p.351-354, 1985.
- COTE, F.; ALVARD, D.; DOMERGUE, R.; NAVARRO-MASTACHE, L.; TEISSON, C. *In vitro* micropagation of bananas and plantains. In: ANNUAL SEMINAR OF IRFA/CIRAD ON BANANAS AND PLANTAINS, 1., Montpellier, 1989. *Proceedings*. Montpellier: CIRAD, 1989. p.112-118.
- CRONAUER, S.S.; KRIKORIAN, A.D. Banana (*Musa spp.*). In: BAJAJ, Y.P.S. (Ed.) *Biotechnology in agriculture and forestry*. Berlin: Springer Verlag, 1986. v.1, p.233-252.
- CRONAUER, S.S.; KRIKORIAN, A.D. Rapid multiplication of bananas and plantains by *in vitro* shoot tip culture. *HortScience*, v.19, p.234-235, 1984.
- EVANS, D.A.; SHARP, W.R. Somaclonal variation in plantains (*Musa spp.*, AAB group) derived from shoot-tip culture. *Fruits*, v.46, p.429-439, 1991.
- FAO QUARTERLY BULLETIN OF STATISTICS. v.8, 1998. p.43.
- FUNDACIÓN HONDUREÑA DE INVESTIGACIÓN AGRÍCOLA - *Informe Anual 1992*. La Lima: FHIA, 1993. 33p.
- ISRAELI, Y.; REUVENI, O.; LAHAV, E. Qualitative aspects of somaclonal variations in banana propagated by *in vitro* techniques. *Scientia Horticulturae*, v.48, p.71-77, 1991.
- JARRET, R.L.; RODRIGUEZ, W.; FERNANDEZ, R. Evaluation, tissue culture, propagation and dissemination of 'Saba' and 'Pelipita' plantains in Costa Rica. *Sciencia Horticulturae*, v.25, p.137-147, 1985.
- LEIFERT, C.; MORRIS, C.E.; WAITES, W.M. Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue culture and field grown plants: reasons for contamination problems *in vitro*. *Critical Reviews in Plant Sciences*, v.13, p.139-183, 1994.
- MENDES, F.; MENDES, B.M.J.; TULMANN NETO, A. Determination of the efficacy of banana (*Musa spp.*) plantlets production by micropropagation. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.31, p.863-867, 1996.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, v.15, p.473-497, 1962.

- OLIVEIRA, R.P.; SILVA, S.O. Avaliação da micropropagação comercial em bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.32, p.415-420, 1997.
- ORELLANA, P.; PEREZ PONCE, J.; AGRAMONTE, D.; GOMEZ, R.; JIMENEZ, E.; MARTINEZ, S.; ALMAGUER, E.; GOMEZ, P. La micropagación del platano a escala comercial en Cuba. **ACEVIV Boletín Científico**, v.3, p.29-38, 1991.
- POCASANGRE, L.; HOHNE, C.; RUÍZ, D.; LÓPEZ, F. Micropagación de híbridos tetraploidos y cultivares triploides de banano. In: FUNDACIÓN HONDUREÑA DE INVESTIGACIÓN AGRÍCOLA. **Programa de banano e platano**. La Lima: FHIA, 1994. p.36-39. (Informe Técnico).
- SANADA, M. Micropagation of semitropical crops and its application to cultivation in Okinawa. In: THIQUYNH, N.; UYEN, N.V. (Ed.) **Adapted propagation techniques for commercial crops of the tropics**. Stockholm, 1993. p.101-105.
- SANDOVAL, J.A.F.; BRENES, G.G.; SANCHEZ, L.P. **Micropagación de platano y banano (*Musa AAB, AAA*) en el CATIE**. Turrialba: CATIE, 1991. 29p. (Serie Técnica. Informe Técnico/CATIE, 186).
- SMITH, M.K. A review of factors influencing the genetic stability of micropropagated bananas. **Fruits**, v.43, p.219-223, 1988.
- VUYLSTEKE, D. **Shoot-tip culture for the propagation and exchange of *Musa* germplasm**; practical manual for handling crop germplasm *in vitro*. Rome: IBPGR, 1989. 56p.
- VUYLSTEKE, D.; DE LANGHE, E. Feasibility of *in vitro* propagation of bananas and plantains. **Tropical Agriculture**, v.62, p.323-328, 1985.
- VUYLSTEKE, D.; SWENNEN, R.; DE LANGHE, E. Somaclonal variation in plantains (*Musa* spp., AAB group) derived from shoot-tip culture. **Fruits**, v.46, p.429-439, 1991.
- VUYLSTEKE, D.; SWENNEN, R.; WILSON, G.F.; DE LANGHE, E. Phenotypic variation among *in vitro* propagated plantain (*Musa* sp., cultivar AAB). **Scientia Horticulturae**, v.36, p.79-88, 1988.
- WONG, W.C. *In vitro* propagation of banana (*Musa* spp.); initiation, proliferation and development of shoot-tip cultures on defined media. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.6, p.159-166, 1986.

Recebido em 09.03.00