

1987/013

LAM

1987

TS-1987/013

OSMAR ALVES LAMEIRA



PROPAGAÇÃO *In Vitro* DA BANANEIRA *Musa* sp ATRAVÉS  
DA CULTURA DE ÁPICE CAULINAR

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fito-tecnia, para obtenção do grau de "MESTRE."

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS  
LAVRAS - MINAS GERAIS

1987

OSMAR ALVES LAMEIRA

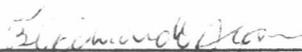
PROPAGAÇÃO *In Vitro* DA BANANEIRA *Musa* sp ATRAVÉS  
DA CULTURA DE ÁPICE CAULINAR

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fito-tecnia, para obtenção do grau de "MESTRE."

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS  
LAVRAS - MINAS GERAIS  
1987

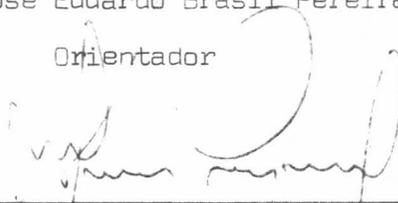
PROPAGAÇÃO IN VITRO DA BANANEIRA Musa sp ATRAVÉS  
DA CULTURA DE ÁPICE CAULINAR

APROVADA: 18 de novembro de 1987



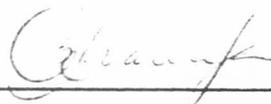
---

Prof. Ph.D. José Eduardo Brasil Pereira Pinto  
Orientador



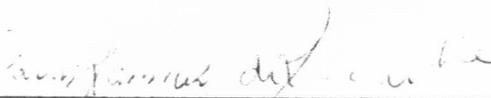
---

Prof. Dr. Moacir Pasqual  
Co-Orientador



---

Prof. Dr. Amauri Alves Alvarenga



---

Prof. MS. Carlos Ramirez de Rezende e Silva

À Minha tia,

Maria Gomes Lameira

OFEREÇO

À minha esposa FÁTIMA

Aos meus filhos Jeancerico,

Christian, Pablo e Ruan Diego

Aos meus irmãos e avós

Aos meus pais JOÃO e NAZARÉ

D E D I C O

## BIOGRAFIA DO AUTOR

OSMAR ALVES LAMEIRA, filho de João Antônio Lameira e Maria de Nazaré Alves Lameira, nasceu no município de Belém, Estado do Pará, no dia 27 de agosto de 1951.

Concluiu o curso superior na Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, no ano de 1976, recebendo o título de Engenheiro Agrônomo.

No período de fevereiro de 1977 a novembro de 1979, exerceu a função de extensionista como Chefe do Escritório Local na Associação de Assistência Técnica e Extensão Rural do Território Federal de Roraima - ASTER RORAIMA, no município de Alto Alegre (RR).

Em novembro de 1979, foi admitido na Secretaria de Agricultura de Roraima, desenvolvendo atividades no Projeto de Colonização.

Criado o Núcleo de Pesquisa Agropecuária de Roraima (NPAR) pela EMBRAPA em janeiro de 1980 foi colocado à disposição do NPAR para desenvolver atividades de pesquisa com culturas alimentares e cana-de-açúcar.

Em maio de 1982, foi instalada a Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Territorial - UEPAT de Boa Vista e permaneceu na condição de Técnico à disposição até fevereiro de 1984, quando foi contratado pela EMBRAPA.

Durante este período até dezembro de 1985, exerceu atividades como Coordenador dos Campos Experimentais de Confiança e Caracarai, além de pesqui-

sas em fruticultura e climatologia agrícola.

Selecionado pela EMBRAPA, iniciou em março de 1986 o curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, na Escola Superior de Agricultura de Lavras - ESAL, tendo concluído em novembro de 1987.

## AGRADECIMENTOS

À DEUS, por tudo.

À minha esposa Fátima e aos meus filhos, pelo carinho que me dedicaram durante o curso.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) através de sua Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Territorial (UEPAT de Boa Vista) pela oportunidade concedida para a realização do curso de mestrado.

À Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL), através de seus departamentos, especialmente ao Departamento de Agricultura (DAG) e ao Laboratório de Biotecnologia, pelos conhecimentos adquiridos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela ajuda financeira no final do curso.

À Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão (FAEPE), pela ajuda financeira na impressão da tese.

Ao professor orientador José Eduardo Brasil Pereira Pinto, pela valiosa orientação, incentivo e amizade transmitida durante o curso.

Ao professor Moacir Pasqual, pela co-orientação e sugestões apresentadas.

Aos professores Amauri Alves de Alvarenga, Thadeu de Pádua e Carlos Ramirez de Rezende e Silva, pelas sugestões apresentadas para o êxito deste trabalho.

Aos professores dos diferentes Departamentos da ESAL, pelos ensinamentos recebidos.

Aos laboratoristas de Biotecnologia, Evaldo e Vantuir, pela colaboração no preparo dos meios de cultivo.

Aos auxiliares de campo do pomar da ESAL, pela ajuda prestada na coleta de material.

Aos colegas pesquisadores do Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura da EMBRAPA (CNPMPF), pelas informações prestadas e envio de material para a condução deste trabalho.

Aos bibliotecários da ESAL, pela colaboração na pesquisa bibliográfica.

Ao Antônio, fotógrafo da ESAL, pelos serviços fotográficos.

Aos meus colegas de curso, especialmente ao Bendezú, Ivo, Brabo, Márcio, Augusto, Junia e Dulcinéia pelo convívio agradável durante o curso.

À TECLA, pelos serviços datilográficos.

E a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para o êxito deste trabalho.

## LISTA DE QUADRO

Quadro		Página
1	Média de número e comprimento de brotos com seus respectivos intervalos. ESAL. 1987 .....	11

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Efeito do BAP ( $\text{mg l}^{-1}$ ) no desenvolvimento de brotações de bananeira cv. Prata, na primeira repicagem. a) MS + 2,5; b) MS + 5,0 e c) MS + 7,5 .....	12
2	Efeito do BAP ( $\text{mg l}^{-1}$ ) no desenvolvimento de brotações de bananeira cv. Prata, na segunda repicagem. a) MS + 2,5; b) MS + 5,0 e c) MS + 7,5 .....	13
3	Efeito do BAP sobre o número e comprimento médio de duas repicagens de brotos de bananeira cv. Prata .....	15
4	Efeito do AIB ( $\text{mg l}^{-1}$ ) no enraizamento de plântulas de bananeira cv. Prata. a) 5, b) 1 e c) 0,2 .....	16
5	Plântulas de bananeira cv. Prata em potes plásticos .....	18
6	Estabelecimento dos explantes da cv. Nanicão com 16 dias de incubação e ocorrência de oxidação fenólica na ausência de antioxidante no meio de cultivo .....	23
7	Efeito do tamanho do explante ( $0,5 \text{ cm}^3$ ) no número e comprimento de brotações da cv. Prata .....	24
8	Estabelecimento dos explantes da cv. Nanicão com 9 dias de incubação no meio líquido MS + 10% de água de coco .....	29

Figura

Página

9	Efeito do PVP-10 (0,5%) sobre a oxidação dos explantes nos meios de cultivo. a, b e c) líquido, d) sólido .....	30
---	---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS

BA	Benziladenina
BAP	6-Benzilaminopurina
Fe-EDTA	Ácido ethylenodiaminotetraacético de ferro
AIA	Ácido indole-3-acético
AIB	Ácido indole-3-butírico
MS	Murashige & Skoog (23)
ANA	Ácido naftaleno acético
NaOCl	Hipoclorito de sódio
PVP-10	Polyvinylpyrrolidone
SM	Smith & Murashige (28)
Tween 20	Polyoxyethylene sorbitan monolanato

## SUMÁRIO

	Página
INTRODUÇÃO .....	1
REVISÃO DE LITERATURA .....	3
CAPÍTULO I - PROPAGAÇÃO "IN VITRO" DA BANANEIRA PRATA ATRAVÉS DA CULTURA DE ÁPICES CAULINARES .....	9
1. MATERIAL E MÉTODOS .....	9
a. Fase de Estabelecimento .....	9
b. Fase de Multiplicação .....	10
c. Fase de Enraizamento .....	10
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	11
3. CONCLUSÕES .....	19
CAPÍTULO II - EFEITO DO TAMANHO DO EXPLANTE NO DESENVOLVIMENTO "IN VITRO" DA BANANEIRA PRATA E NANICÃO .....	20
1. MATERIAL E MÉTODOS .....	20
a. Fase de Estabelecimento .....	20
b. Fase de Multiplicação .....	21
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	21
3. CONCLUSÕES .....	25

CAPÍTULO III - PROPAGAÇÃO "IN VITRO" DE CULTIVARES DE BANANEIRA: EFEI <u>TO</u> DO MEIO DE CULTIVO NO ESTABELECIMENTO DO EXPLANTE..	26
1. MATERIAL E MÉTODOS .....	26
a. Fase de Estabelecimento .....	26
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	27
3. CONCLUSÕES .....	31
RESUMO .....	32
SUMMARY .....	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	36

## INTRODUÇÃO

A bananeira é propagada vegetativamente e é baixa a taxa de multiplicação de um clone. Além disto, as mudas podem estar infestadas com importantes fungos patogênicos como o que causa o mal-do-panamá [*Fusarium oxysporum cubense* (E.F. Smith) Snyder & Hansen], WONG (34) e a sigatoka-negra (*Mycosphaerella fijensis* var. *difformis*), além do 'Moko' ou murcha-bacteriana da bananeira, causada pela bactéria *Pseudomonas solanacearum* Smith, raça 2, CRONAUER & KRIKORIAN (8).

A principal vantagem da técnica da propagação "in vitro" a partir de meristemas, para a multiplicação vegetativa da bananeira, é que ela resulta num tipo de material propagativo livre de enfermidades e com potencial para constituir uma fonte contínua de material juvenil. Isto é desejável para cultivares promissoras que se encontram atacadas por patógenos sistêmicos e quando se requer a produção de mudas certificadas.

Esta técnica constitui-se, ainda, em um grande potencial de aplicação nos programas de melhoramento genético, permitindo a rápida multiplicação de novas cultivares e híbridos selecionados, DANTAS et alii (13). Também desempenha um papel importante no processo de transferência de germoplasma, haja visto, facilitar o intercâmbio de plantas sadias de uma região para outra, através de instituições nacionais ou internacionais.

Atualmente, o cultivo "in vitro" de gemas apicais, constitui-se numa metodologia de propagação assexual eficaz, que permite obter uma rápida multiplicação em grande escala, a partir de um explante. A propagação pode ser realizada durante todo o ano e ser programada para facilitar a disponibilidade de material para plantio de novas áreas e investigação.

Embora vários trapalhos tenham sido relatados na propagação "in vitro" da bananeira (6, 8, 14, 18, 20, 26, 32), a aplicação desta técnica ainda encontra grandes dificuldades, existindo um número reduzido de estudos a respeito, principalmente, quanto ao manejo e tamanho dos explantes.

Por outro lado, as informações geradas têm mostrado respostas diferentes para as cultivares estudadas, nas fases de estabelecimento, multiplicação e enraizamento dos explantes.

Este trabalho, teve por objetivo, identificar técnicas eficazes que permitam um rápido estabelecimento, multiplicação e enraizamento "in vitro" da bananeira Musa sp.

## REVISÃO DE LITERATURA

A utilização das técnicas de cultura de tecidos na multiplicação de espécies do gênero Musa, são relatadas desde o início da década de sessenta, por COX et alii (6) e MOHAN & STEWARD (22). Apesar do tempo decorrido e da grande importância econômica das espécies, Musa acuminata Colla e Musa balbisiana Colla, existe um número relativamente reduzido de estudos a respeito.

Realizando tratamento térmico a uma temperatura de 35 a 45°C por um período de cem dias em rizomas de cultivares do sub-grupo Cavendish que ainda não tinham emitido cachos, BERG & BUSTAMANTE (4) obtiveram 75% das plantas livres de viroses fazendo o cultivo de meristemas das gemas laterais "in vitro". O meio nutritivo utilizado foi o de Knudson suplemento com ANA, AIA e AIB a 1 mg l<sup>-1</sup>, além de 1 g l<sup>-1</sup> de ácido casamino e extrato de fermento e 100 ml l<sup>-1</sup> de leite de coco.

Removendo assépticamente os meristemas apicais dos rizomas e cortando-os com sete a doze incisões verticais, VESSEY & RIVERA (31) desenvolveram um método rápido de propagação da bananeira, através do cultivo do tecido meristemático em meio "MS" modificado, suplementado com 1,0 mg l<sup>-1</sup> de AIA e 0,5 mg l<sup>-1</sup> de BA. Foram obtidos 10 a 25 meristemas por rizoma, e cada meristema no meio de cultura produziu 15 a 20 brotos trinta dias após a incubação, e estes, necessitaram de cinquenta dias para serem transferidos para o campo.

Meristemas com poucos primórdios foliares da variedade Williams foram utilizados por BOWER & FRASER (5) em meio básico "MS", suplementado com diferentes concentrações de reguladores de crescimento. Os melhores resultados na formação de plântulas enraizadas foram obtidos com  $5 \text{ mg l}^{-1}$  de Cinetina,  $2 \text{ mg l}^{-1}$  de AIB e ANA. Das plântulas formadas, 92% poderiam ser transplantadas para sacos de polietileno, após seis meses de incubação.

Utilizando pedaços do meristema apical de Musa textilis, cultivados em meio nutritivo "MS" modificado, complementado com  $10 \text{ mg l}^{-1}$  de BAP e  $80 \text{ mg l}^{-1}$  de Sulfato de Adenina, MANTE & TEPPER (21) obtiveram 4 a 8 brotos por explante em vinte e oito dias de incubação. Quando aplicaram  $1 \text{ mg l}^{-1}$  de citocinina na presença de 0,1 a  $1 \text{ mg l}^{-1}$  de ANA o desenvolvimento das raízes foi estimulado e as plântulas formadas foram transferidas dentro de potes para a casa de vegetação, sete dias após o enraizamento.

A influência do tipo de explante na brotação foi observada por SWAMY et alii (30) trabalhando com ápices caulinares isolados de bananeira, cultivar Robusta. Os ápices caulinares com folhas mais novas produziram somente uma planta por explante, mas ápices caulinares com várias folhas mais velhas, regeneraram múltiplas plantas. Estes autores observaram também que cada mini planta, quando separada e sub-culturada, produziu uma nova cultura de múltiplas brotações. As plantas obtidas, de ambos os tipos de explantes, foram transplantadas para o solo com sucesso e cresceram até a maturidade.

As "bananas de cozinhar" (Genoma ABB) cultivares 'Saba' e 'Pelipita' são resistentes à sigatoka negra causada pela Mycosphaerella fijiensis var. difformis e alguns trabalhos vêm sendo realizados com estes clones utilizando-se as técnicas de cultura de tecidos.

Clones de bananeira 'Philipine Lacatan', 'Grande Naine', 'Saba' e 'Pelipita' foram cultivados em um meio "MS" modificado, suplementado com  $5 \text{ mg l}^{-1}$  de BA por CRONAUER & KRIKORIAN (10). A maior velocidade de crescimento e peso fresco foram obtidas nos clones 'Saba' e 'Grande Naine'. A utilização de BA neste trabalho, promoveu uma rápida multiplicação de brotos, com ca-

da metade do broto, produzindo uma média de nove novos brotos em três semanas no clone 'Pelipita'.

Diferentes tipos de brotações foram observados nos clones 'Saba' e 'Pelipita' por (9, 19, 24) quando utilizaram o meio "MS" líquido e solidificado, suplementados com  $5 \text{ mg l}^{-1}$  de BA. Ápices culturados em meio sólido produziram brotações simples, enquanto ápices colocados em meio líquido produziram brotações múltiplas. As brotações individuais foram induzidas a formarem brotações ramificadas pelo corte longitudinal da brotação a partir do ápice, tendo ocorrido maiores multiplicações quando se utilizou  $5 \text{ mg l}^{-1}$  de BA. O enraizamento das plântulas foi obtido com a metade da concentração do meio "MS", suplementado com  $0,2 \text{ mg l}^{-1}$  de AIB, ou com o meio completo na ausência de reguladores de crescimento.

Metodologia semelhante à de VESSEY & RIVERA (31), no manuseio dos explantes, foi a utilizada por HWANG et alii (17). Trabalhando com o meio "MS", suplementado com  $2 \text{ mg l}^{-1}$  de AIA e  $2 \text{ mg l}^{-1}$  de Cinetina, produziram plântulas livres de patógenos. Estas, desenvolveram-se bem em condições de campo, apresentando crescimento uniforme e boa produtividade de frutos, além de diminuir o período de colheita de três para um mês e meio. Como consequência deste trabalho, foi produzido, em 1983, um milhão de plântulas saudáveis para plantios comerciais, com o objetivo de impedir a disseminação da murcha de Fusarium. Segundo HWANG (16), avaliações e testes posteriores permitiram constatar que a taxa de variabilidade gerada na cultura de meristemas de bananeira, possibilita selecionar mutantes resistentes a este patógeno.

Um aspecto de grande interesse na propagação "in vitro" da bananeira é a taxa de multiplicação nas sub-culturas seguintes. BANERJEE & DE LANGHE (1), trabalhando com ápice caulinar de oito cultivares de banana e plantain (grupo de banana para cozinhar), obtiveram uma taxa de multiplicação bem diferenciada entre as cultivares até a sétima sub-cultura, quando utilizaram o meio "MS" modificado, suplementado com  $0,18 \text{ mg l}^{-1}$  de AIA e  $2,3 \text{ mg l}^{-1}$  de BA.

Estes autores verificaram também, que foi possível o armazenamento sob condições mínimas de crescimento dos explantes estabelecidos. Para conseguir a estabilidade de crescimento dos ápices caulinares, colocaram o meio utilizado na multiplicação dos explantes em temperatura de 15°C e intensidade de luz de 1000 lux, tendo sido viável o armazenamento por treze a dezessete meses, dependendo da cultivar.

Uma outra fonte de explante que tem sido estudada para a multiplicação "in vitro" da bananeira, é a parte terminal do ápice da inflorescência. Segundo BARRY et alii (3), o cultivo "in vitro" deste explante, permite constatar várias reações sobre os explantes primários e sub-culturados, levando a produção de brotos com folhas. Relatam, ainda, que há uma reversão ao estágio vegetativo de estruturas florais ou inflorescências ou de formações de meristemas caulinares a partir de tecidos situados na axila das brácteas florais. Estes resultados foram obtidos em meio "MS" complementado com vitaminas de Morel, Fe-EDTA ( $10^{-4}M$ ), 20 g  $l^{-1}$  de sacarose, 500 mg  $l^{-1}$  de caseína hidrolizada, 7 g  $l^{-1}$  de agar e diversas concentrações de AIA, ANA, BAP e BA.

Ápices terminais de inflorescência de Musa acuminata cv. Dward Cavendish, foram também isolados e cultivados por CRONAUER & KRIKORIAN (11), utilizando o meio "MS" adicionado com 5 mg  $l^{-1}$  de BAP e 10% de água de coco. Sob estas condições as gemas florais também foram transformadas em um sistema multiplicativo de gemas. O enraizamento das plântulas foi obtido tratando-as com 1 mg  $l^{-1}$  de ANA e 0,025% de carvão ativado. Trabalhando com a mesma cultivar e o mesmo tipo de explante, estes autores também obtiveram plantas livres de viroses em meio de cultura semelhante adicionado de 5,5 mg  $l^{-1}$  de BA. A multiplicação deste tipo de material seria de grande importância em programas de melhoramento, CRONAUER & KRIKORIAN (7) e OUYANG (25).

Ápices caulinares obtidos de rizomas desenvolvidos de plantas crescidas no campo e cultivados em meio "MS" suplementado com 10 mg  $l^{-1}$  de BA, produziram múltiplas gemas, DAMASCO & BARBA (12). Segundo estes autores, como a sub-cultura era realizada em intervalos de dois meses, 200.000 plântulas po-

deriam ser obtidas de um explante em dez meses de cultivo.

. Trabalhando com meristemas de noventa e três clones de Musa acuminata e Musa textilis, SUN (29) desenvolveu múltiplas gemas adventícias em meio "MS" adicionado de 2 e 5 mg l<sup>-1</sup> de AIA e BA, respectivamente. Quando sub-culturas no mesmo meio, a maioria somente foi regenerada e multiplicada na ausência de AIA e com 0,4% de agar. Posteriormente, as plântulas foram transferidas para um meio contendo 0,1% de carvão ativado para enraizamento.

Na propagação "in vitro" da bananeira, VUYLSTEKE & DE LANGHE (33) utilizaram várias fontes de explantes, ápices, broto de gemas laterais, mudas desenvolvidas e rizomas, todas oriundas de onze cultivares de diferentes grupos (AA, AAA, AAB e ABB) de diferentes alturas: porte baixo e alto, e de banana de mesa e de fritar. Os explantes foram colocados no meio "MS" modificado, suplementado com 0,2 mg l<sup>-1</sup> de AIA e BA. As plântulas obtidas foram transferidas para um meio de enraizamento contendo 0,2 mg l<sup>-1</sup> de AIB, 5 a 8 semanas após a incubação. Foi observado que os explantes com 2 mm de tamanho, 7 a 8 semanas, apresentaram plântulas, com folhas funcionais e o sistema radicular estabelecido e aos três meses foram transferidas para o solo.

Utilizando explantes de 2 a 4 cm de tamanho de oito cultivares triploides de Musa (banana e plantain) oriundos de rizomas e gemas laterais dormentes, BANERJEE et alii (2) obtiveram múltiplos brotos em quatro a cinco semanas de incubação, cultivados no meio "MS" adicionado de 0,2 e 2,5 mg l<sup>-1</sup> de AIA e BA, respectivamente. A indução de raiz foi formada com a metade do meio "MS" mais 0,2 mg l<sup>-1</sup> de AIB. Posteriormente, foram realizados estudos histomorfológicos sobre a origem e o desenvolvimento das gemas dos brotos.

A cultura de meristema apical, a qual também tem aplicação na preservação de germoplasma, foi estudada em duas cultivares de Musa acuminata e três de Musa acuminata x Musa balbisiana por GUPTA (15). Os meristemas com 1,5 a 2,0 mm de comprimento foram retirados de rizomas previamente tratados a uma temperatura de 38 a 40°C durante quatorze dias e cultivados em meio "MS" modificado, suplementado com 0,7 mg l<sup>-1</sup> de BA e Cinetina e 25 mg l<sup>-1</sup> de ácido

ascórbico. Este meio de cultura foi eficiente na prevenção contra a oxidação de componente fenólicos presentes nos explantes e produziu em média treze plântulas enraizadas por meristema em um período de dez a doze semanas. As plântulas obtidas estavam livres da doença de mosaico, determinada pela inspeção visual, inoculação mecânica em Cucumis sativus e pelo microscópio eletrônico.

Ápices caulinares de vinte e duas cultivares de bananeira foram cultivados "in vitro" por WONG (34) visando uma multiplicação rápida de plantas livres da doença conhecida como mal-do-panamá. Os explantes foram cultivados em um meio básico "MS" modificado, complementado com 0,1 e 5 mg l<sup>-1</sup> de AIB e BA, respectivamente. Posteriormente, sob várias concentrações de BA e Cinetina, foram obtidas em média 1 a 10 brotos por explante nas diversas cultivares estudadas. Os resultados mostraram que o uso de BA, foi mais efetivo do que a Cinetina.

CAPÍTULO I - PROPAGAÇÃO "IN VITRO" DA BANANEIRA 'PRATA'  
ATRAVÉS DA CULTURA DE ÁPICES CAULINARES

Os trabalhos foram desenvolvidos durante o ano de 1987 no Laboratório de Cultura de Tecidos da Escola Superior de Agricultura de Lavras - ESAL, MG.

1. Material e Métodos

a. Fase de Estabelecimento

Explante - Os explantes com  $2 \text{ cm}^3$  provenientes de gemas laterais da cultivar Prata (AAB) obtidos no pomar da ESAL, foram lavados em água corrente por 2 horas. Posteriormente com  $1 \text{ cm}^3$  foram mergulhados em solução a 1% de metabissulfito de sódio por 15 segundos e a seguir em 10% de solução comercial com 0,2% de NaOCl adicionada de duas gotas de tween 20, por 5 minutos.

Em câmara de fluxo laminar, os explantes foram lavados quatro vezes em água destilada autoclavada e asspticamente cortados em tamanho de 3 a 5 mm de comprimento.

Meio de Cultura - Inicialmente os explantes foram mergulhados por 5 segundos em solução com  $0,5 \text{ mg l}^{-1}$  de BAP +  $1 \text{ mg l}^{-1}$  de AIA e transferidos para o meio básico de cultura contendo sais minerais do meio "MS" adicionado de  $0,5 \text{ mg l}^{-1}$

de tiamina HCl, ácido nicotínico e piridoxina HCl, 100 mg l<sup>-1</sup> de mio-inositol, 2 mg l<sup>-1</sup> de glicina, 30 g l<sup>-1</sup> de sacarose e 5 mg l<sup>-1</sup> de BAP. O meio foi ajustado para pH 5.8 ± 1, solidificado com 0,7% de agar e autoclavado por 15 minutos a 120°C e 1,3 kg cm<sup>-2</sup>. As culturas foram incubadas em tubos de ensaio (2,5 x 15 cm) por uma semana no escuro e posteriormente a 27 ± 1°C em 16 horas de fotoperíodo sob luz branca fria (3000 lux).

#### b. Fase de Multiplicação

Após o estabelecimento dos explantes, os brotos formados foram separados individualmente e transferidos para um novo meio, sob as mesmas condições e em concentrações de 2,5; 5,0 e 7,5 mg l<sup>-1</sup> de BAP. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado com dez repetições e dois tubos de ensaio (2,5 x 15 cm) por parcela.

A avaliação tomou por base o número e o comprimento de brotos por explante com seus respectivos intervalos, em cada repicagem, espaçadas de aproximadamente vinte dias.

#### c. Fase de Enraizamento

Os brotos formados foram transferidos individualmente para a indução de raízes no meio "MS" contendo a metade da concentração dos sais minerais, sob as mesmas condições e em concentrações de 0,1; 0,2; 1,0 e 5,0 mg l<sup>-1</sup> de AIB; 1 mg l<sup>-1</sup> de AIB + 0,4 mg l<sup>-1</sup> de BAP e 0,25% de carvão ativado. Após a indução de raízes, as plântulas foram cultivadas no meio básico "MS" na ausência de reguladores de crescimento.

O efeito dos tratamentos foi avaliado, tomando-se o número e comprimento de raízes por plântula com sua respectiva altura e número de folhas.

## 2. Resultados e Discussão

Os ápices caulinares foram estabelecidos com quatro semanas. No entanto, a formação de brotos com condições de serem repicados somente ocorreu com sete semanas de incubação.

Utilizando meio de cultivo semelhante SWAMY et alii (30), estabeleceram ápices caulinares da cultivar Robusta com três a quatro semanas de cultivo e os explantes apresentavam brotos em condições de serem repicados com oito semanas de incubação.

A ocorrência de oxidação fenólica foi prejudicial para o desenvolvimento inicial de brotos.

Os resultados referentes a número e comprimento médio dos brotos com seus respectivos intervalos são apresentados no Quadro 1.

QUADRO 1 - Média de número e comprimento de brotos por explante com seus respectivos intervalos. ESAL. 1987.

BAP mg l <sup>-1</sup>	1ª Repicagem		2ª Repicagem	
	Broto		Broto	
	Número	Comprimento (mm)	Número	Comprimento (mm)
2,5	2,5 (2-4)a	6 (2-12)a	2,5 (2-3)a	8,1 (1-25)a
5,0	1,9 (1-3)ab	5,9 (3-10)ab	1,5 (1-2)b	6,4 (1-20)b
7,5	1,5 (1-2)b	3,7 (1-10)b	1,5 (1-2)b	6,4 (1-20)b

Médias seguidas da mesma letra são estatisticamente iguais a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O tratamento contendo 2,5 mg l<sup>-1</sup> de BAP, proporcionou o maior número e comprimento médio de brotos nas duas repicagens realizadas (Figs. 1 e 2). Re

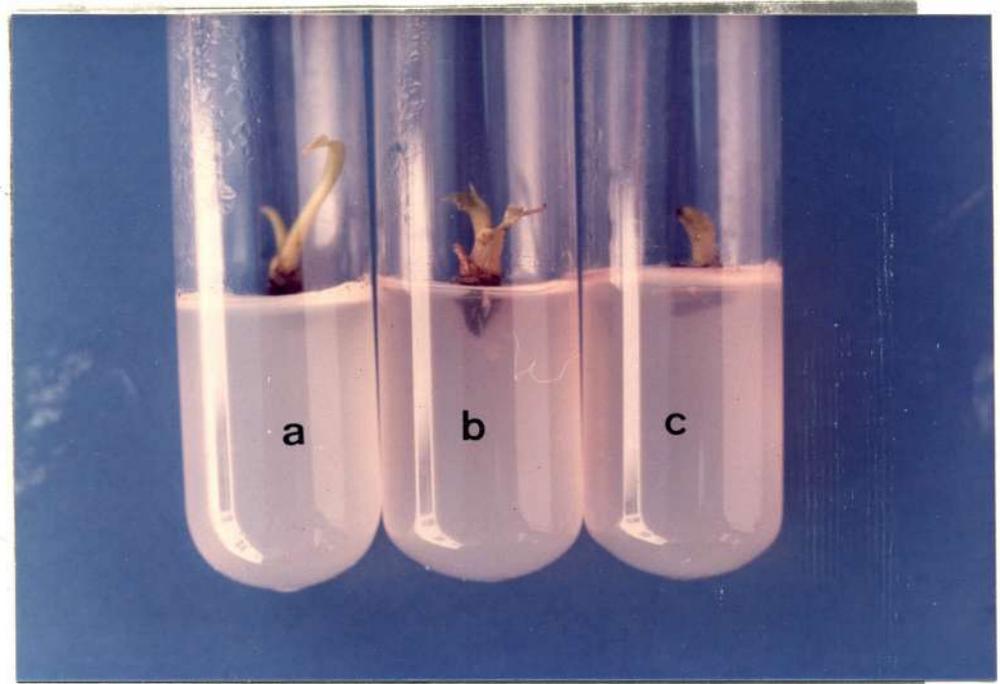


FIGURA 1 - Efeito do BAP ( $\text{mg l}^{-1}$ ) no desenvolvimento de brotações de bananeira cv. Prata, na primeira repicagem. a) MS + 2,5; b) MS + 5,0 e c) MS + 7,5.

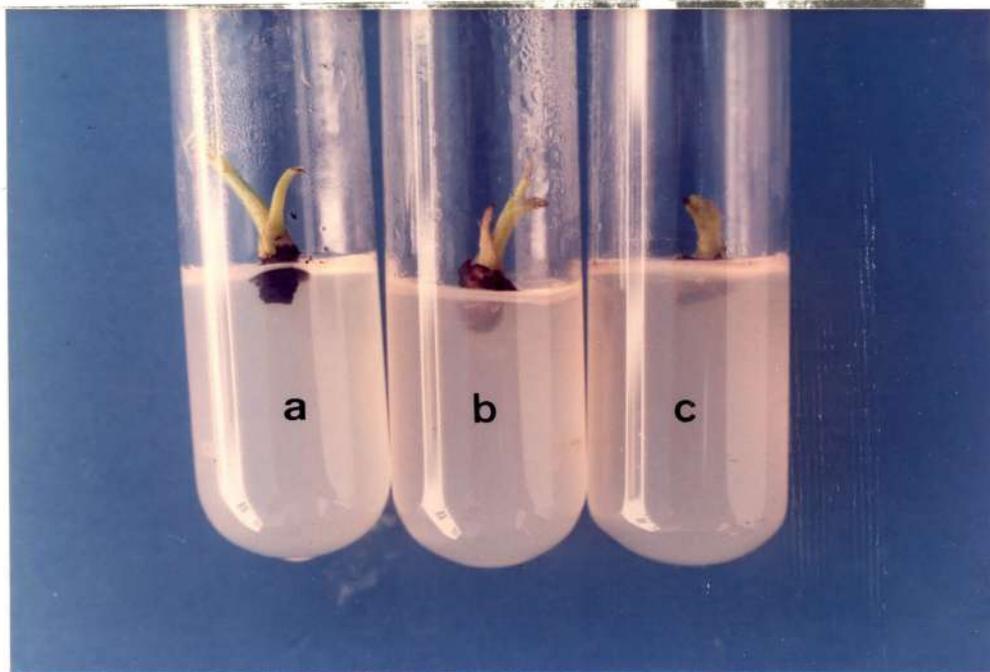


FIGURA 2 - Efeito do BAP ( $\text{mg l}^{-1}$ ) no desenvolvimento de brotações de bananeira cv. Prata, na segunda repicagem. a) MS + 2,5; b) MS + 5,0 e c) MS + 7,5.

sultados semelhantes, quanto ao número médio de brotos, foram obtidos por WONG (34) trabalhando em condições semelhantes de meio de cultura, com as cultivares Mysore e Lady Finger, ambas pertencentes ao mesmo grupo da cultivar Prata (AAB). CRONAUER & KRIKORIAN (10) obtiveram no clone Pelipita até 10 mm de comprimento do broto utilizando o mesmo meio de cultura.

Utilizando explantes da cultivar Prata, BANERJEE & DE LANGHE (1) obtiveram em média 3,5 e 6,3 brotos, respectivamente, na primeira e segunda repicagem, porém, fizeram uso do meio "MS" suplementado de  $2,3 \text{ mg l}^{-1}$  de BA e  $0,18 \text{ mg l}^{-1}$  de AIA.

No tratamento com maior concentração de BAP ( $7,5 \text{ mg l}^{-1}$ ) ocorreu o menor número e comprimento médio de brotos (Fig. 3).

Segundo WONG (34) em algumas cultivares, concentrações mais elevadas de Citocininas, tendem a inibir ou diminuir o número de brotações.

A indução de raízes ocorreu com uma, três e seis semanas após a incubação nos tratamentos que continham, respectivamente, 5,0; 1,0 e  $0,2 \text{ mg l}^{-1}$  de AIB (Fig. 4). Nos demais tratamentos não foi observada a formação de raízes e o tratamento contendo  $5 \text{ mg l}^{-1}$  de AIB proporcionou o maior número e desenvolvimento de raízes e a melhor formação da plântula.

Após a indução de raízes, o crescimento somente foi acelerado quando transferiu-se as plântulas para um novo meio com a metade da concentração dos sais minerais na ausência de hormônios e com o tubo de ensaio sendo envolvido por um papel de alumínio na parte inferior que continha o meio de cultivo.

Utilizando o meio "MS" suplementado com  $5 \text{ mg l}^{-1}$  de AIB, SWAMY et alii (30) obtiveram o enraizamento de plântulas em condições de serem transplantadas para o solo com seis semanas de incubação após a indução das raízes. Com um período de uma a três semanas, VUYSTEKE & DE LANGHE (33), obtiveram a indução de raízes no meio "MS", complementado com  $0,2 \text{ mg l}^{-1}$  de AIB. Posteriormente, as raízes foram crescidas até 10 cm de comprimento, quando utilizaram novo meio com a metade da concentração dos sais minerais na ausência de hormônios.

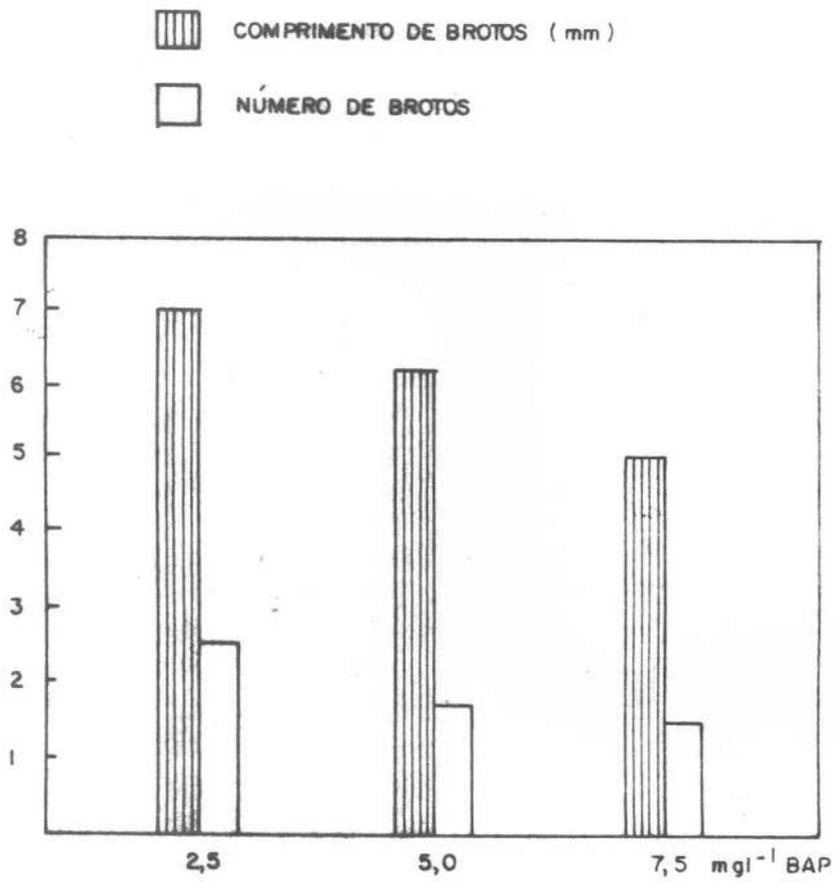


FIGURA 3 - Efeito do BAP sobre o número e comprimento médio de duas repicagens de brotos de bananeira cv. Prata.

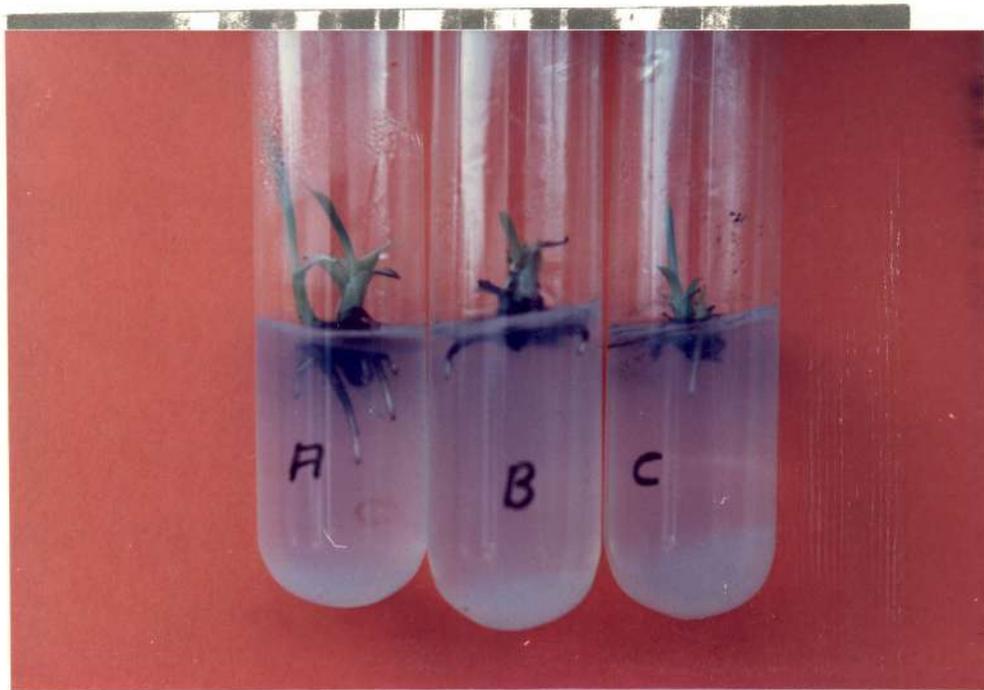


FIGURA 4 - Efeito do IBA ( $\text{mg l}^{-1}$ ) no enraizamento de plântulas de bananeira cv. Prata. a) 5; b) 1 e c) 0,2.

As plântulas enraizadas foram transferidas para pequenos potes plásticos (Fig. 5) contendo composto orgânico, constituído de vermiculita expandida e material orgânico de origem vegetal, além de macro e micronutrientes.

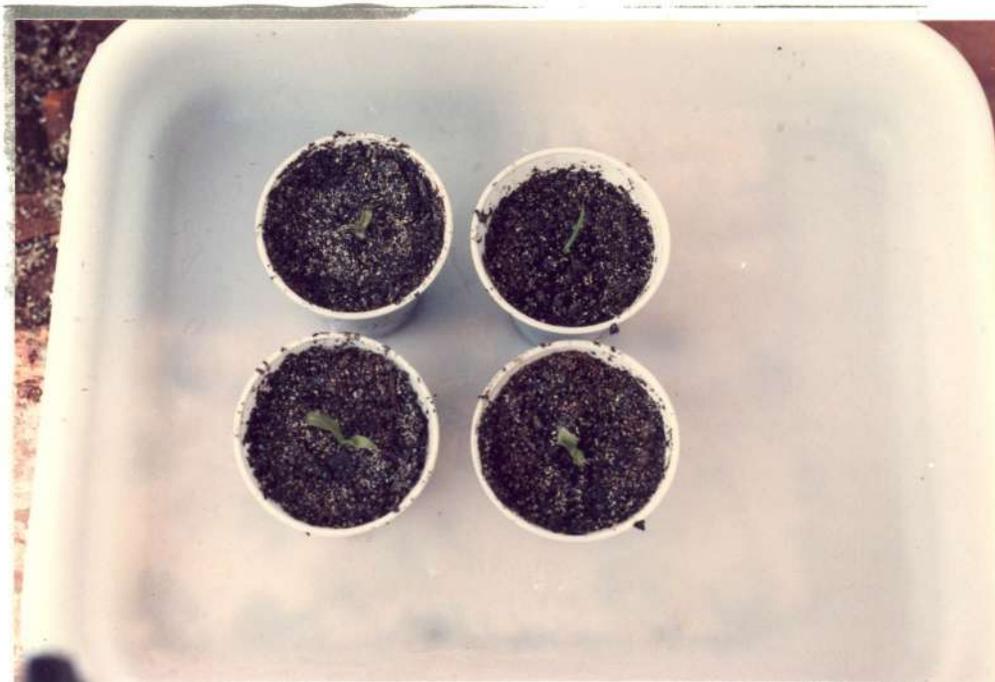


FIGURA 5 - Plântulas de bananeira cv. Prata em potes plásticos.

### 3. Conclusões

- Uma cultura de ápices caulinares pode ser estabelecida com quatro semanas de incubação.

- A oxidação fenólica prejudica o desenvolvimento inicial de brotos.

- A adição de  $2,5 \text{ mg l}^{-1}$  de BAP no meio "MS" permite uma produção média de 2,5 brotos/explante, os quais podem ser repicados a intervalos de vinte dias.

- Uma rápida indução de raízes é obtida em meio "MS" adicionado de  $5 \text{ mg l}^{-1}$  de AIB e o crescimento posterior é acelerado com a transferência para novo meio contendo a metade da concentração dos sais minerais, na ausência de reguladores de crescimento.

CAPÍTULO II - EFEITO DO TAMANHO DO EXPLANTE NO  
DESENVOLVIMENTO "IN VITRO" DA BANANEIRA  
'PRATA' E 'NANICÃO'

1. Material e Métodos

a. Fase de Estabelecimento

Explante - Os explantes com  $2 \text{ cm}^3$  provenientes de mudas do tipo chifre das cultivares Prata (AAB) e Nanicão (AAA), foram obtidos em pomar de produtor localizado à 14 km da sede do município de Lavras. Os explantes foram lavados em água corrente e, em seguida, desinfectados em 10% de solução comercial com 0,2% de NaOCl adicionada de duas gotas de Tween 20 por 15 minutos.

Em câmara de fluxo laminar, os explantes foram lavados quatro vezes em água destilada autoclavada e assepticamente cortados em tamanhos de 0,5; 1,0 e  $1,5 \text{ cm}^3$ . Posteriormente, foram colocados em meio básico de cultura contendo sais minerais do meio "MS".

Meio de Cultura - As condições de preparo e o meio de cultivo foram semelhantes a do Capítulo I, com exceção para a sacarose ( $20 \text{ g l}^{-1}$ ), além da adição de 10% de água de coco e  $25 \text{ mg l}^{-1}$  de ácido ascórbico. As culturas foram incubadas a  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  em 16 horas de fotoperíodo, sob luz branca fria (1500 lux).

## b. Fase de Multiplicação

Após o estabelecimento da cultura, os explantes foram transferidos em frascos (6 x 13 cm) para novo meio de cultivo semelhante ao anterior, sob as mesmas condições, porém, sem a adição de ácido ascórbico e solidificado com  $6 \text{ g l}^{-1}$  de agar. Os explantes antes de serem incubados, receberam seis incisões longitudinalmente através do ápice até a base do rizoma, para acelerar o processo de indução de brotações. Posteriormente, tiveram suas bases mergulhadas em solução de 0,05% de ácido ascórbico por 5 segundos para prevenir a oxidação fenólica dos explantes.

A avaliação foi realizada tomando-se o número, comprimento e o período para brotações.

## 2. Resultados e Discussão

Não houve influência do tamanho dos explantes no tempo de estabelecimento. Diferenças foram observadas entre cultivares, os da Nanicão foram estabelecidos com 16 dias de incubação (Fig. 6) e os da cultivar Prata com 20 dias. Esta diferença foi provavelmente devida a variação genética existente entre as cultivares, uma vez que normalmente observa-se variações nas respostas de um genótipo para outro.

A adição de 10% de água de coco, além de diminuir o período para estabelecimento, proporcionou maior desenvolvimento dos explantes.

Vários trabalhos relatam o estabelecimento dos explantes de vários tamanhos em períodos de uma a quatro semanas de incubação, utilizando-se diferentes meios de cultivo e diversas cultivares de bananeira (4, 9, 30, 32).

No entanto, WYLSSTEKE & DE LANGHE (33) e WONG (34) são os autores que

têm conseguido o estabelecimento dos explantes em menor espaço de tempo, ou seja, de uma a duas semanas de cultivo, utilizando o meio "MS" suplementado com concentrações de 1 a 5 mg l<sup>-1</sup> de BA ou BAP e de 0,1 a 1 mg l<sup>-1</sup> de AIA ou AIB.

Durante a fase de estabelecimento dos explantes, a presença de ácido ascórbico no meio de cultura proporcionou menos oxidação fenólica dos explantes do que na fase de multiplicação, na ausência de antioxidante (Fig. 6) quando ocorreu a morte de muitos explantes. GUPTA (15), utilizando o meio "MS" suplementado com ácido cítrico, ácido ascórbico e carvão ativado para prevenir a oxidação fenólica dos explantes, obteve melhor resultado quando adicionou no meio de cultivo, 25 mg l<sup>-1</sup> de ácido ascórbico.

Explantes da cultivar Prata com 0,5 cm<sup>3</sup> de tamanho, produziram 3 brotos com cinco semanas de incubação. Duas semanas após, as brotações tinham 0,5 a 1 cm de comprimento e em condições de serem repicadas (Fig. 7), embora a oxidação fenólica ocorrida na fase de multiplicação, tenha prejudicado o desenvolvimento de brotações na maioria dos explantes.

Resultados semelhantes quanto ao número de brotos, foram obtidos por SILAYOI et alii (27) utilizando ápices caulinares com 0,5 cm<sup>3</sup> de tamanho da cultivar Klnai Hom Thong no meio "MS" suplementado com 5 mg l<sup>-1</sup> de BA e 15% de água de coco.

A menor ocorrência de contaminação observada nos explantes com 0,5 cm<sup>3</sup>, indica serem estes os que apresentam o melhor tamanho, para servirem de fonte de propagação.

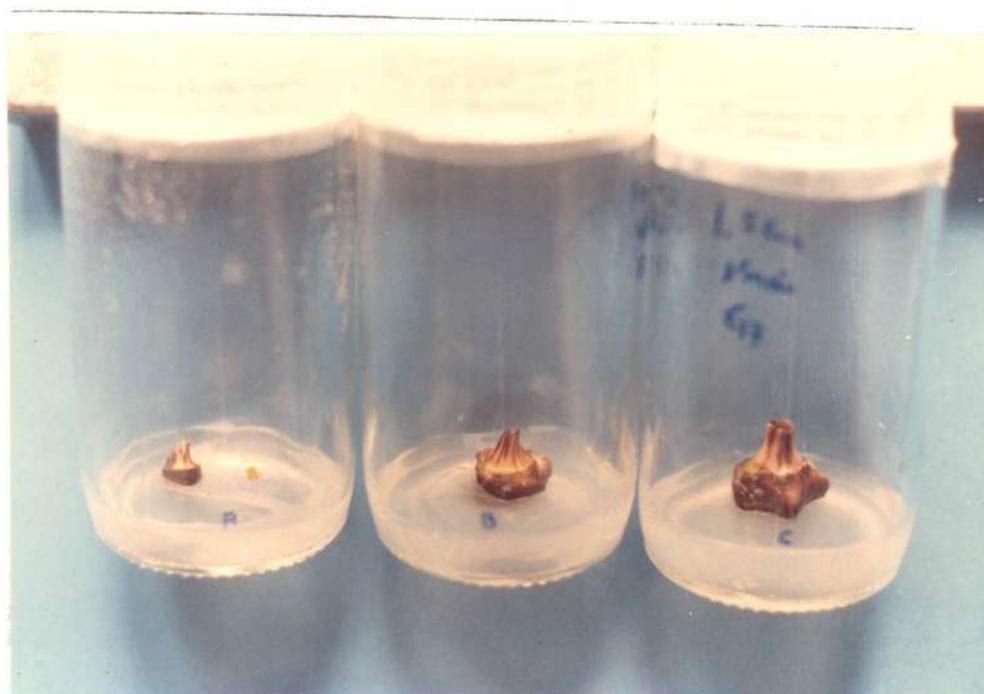


FIGURA 6 - Estabelecimento dos explantes da cv. Nanicão com 16 dias de incubação e ocorrência de oxidação fenólica na ausência de antioxidante no meio de cultivo.

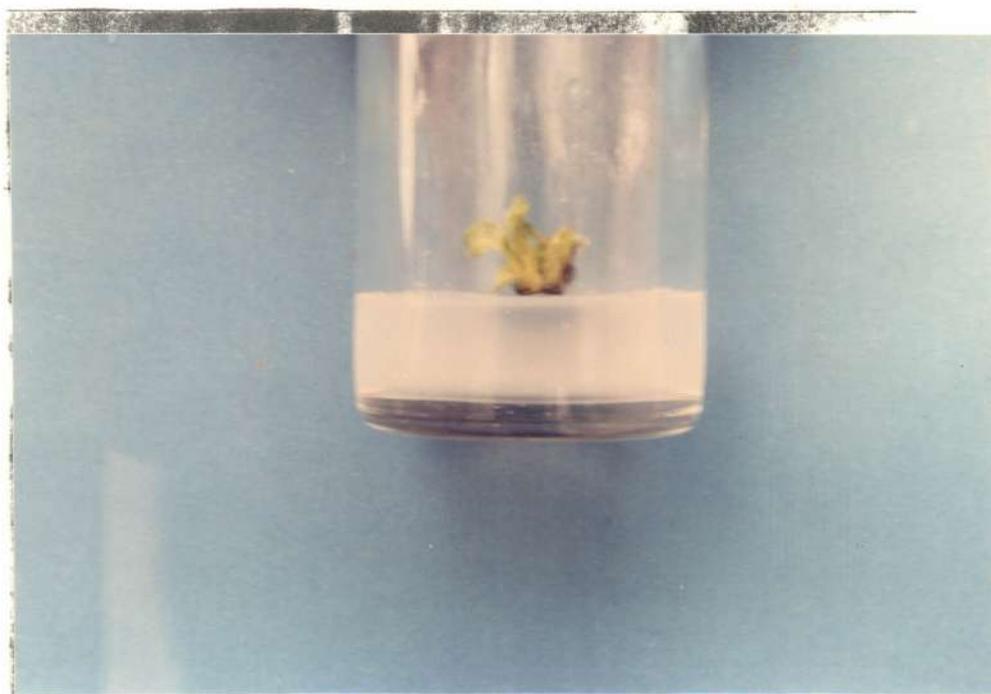


FIGURA 7 - Efeito do tamanho do explante ( $0,5 \text{ cm}^3$ ) no número e comprimento de brotações da cv. Prata.

### 3. Conclusões

- O estabelecimento dos explantes das cultivares Nanicão e Prata não é influenciado pelo tamanho destes. Porém, ocorre diferença entre as cultivares, sendo a Nanicão a mais precoce.

- A presença de ácido ascórbico no meio de cultivo reduz a oxidação fenólica dos explantes, conseqüentemente favorecendo a ocorrência de brotações.

- Brotos de até 1 cm de comprimento são obtidos com sete semanas de incubação quando é utilizado explante com 0,5 cm<sup>3</sup> de tamanho.

A ocorrência de contaminação é reduzida em explantes de menor tamanho.

CAPÍTULO III - PROPAGAÇÃO "IN VITRO" DE CULTIVARES DE BANANEIRA:  
EFEITO DO MEIO DE CULTIVO NO ESTABELECIMENTO DO EXPLANTE

1. Material e Métodos

a. Fase de Estabelecimento

Explante - Os explantes com 2 a 2,5 cm<sup>3</sup> provenientes de mudas do tipo chifre e chifrinho das cultivares Grande Naine (AAA) procedente do DNPMF, Mysore (AAB), Pacovan (AAB), Prata Anã (AAB), Prata (AAB) e Nanicão (AAA) obtidas no pomar da ESAL e Nanica (AAA), Terra (AAB) e São Tomé (AAA) oriundas do pomar da EPAMIG em Lavras foram lavados em água corrente. Posteriormente, desinfectados em 30% de solução comercial com 0,6% de NaOCl adicionada de duas gotas de Tween 20 por 15 minutos.

Em câmara de fluxo laminar, os explantes foram lavados quatro vezes em água destilada autoclavada e assepticamente cortados em tamanhos de 0,5 a 1,0 cm<sup>3</sup>.

Meio de Cultura - Os explantes foram cultivados no meio básico "MS" suplementada com 0,5 mg l<sup>-1</sup> de tiamina HCl, ácido nicotínico e piridoxina HCl, 100 mg l<sup>-1</sup> de mio-inositol, 2 mg l<sup>-1</sup> de glicina, 25 g l<sup>-1</sup> de sacarose e 0,5% de PVP-10. Parte do meio foi deixado em estado líquido e adicionado com 10% de água de co-co.

O restante do meio foi dividido em três partes iguais e suplementado com 10% de água de coco, ( $1 \text{ mg l}^{-1}$ ) de BAP + AIA e 10% de água de coco +  $1 \text{ mg l}^{-1}$  de AIA. O pH dos meios foram ajustados para 5,8 e solidificados com  $6 \text{ g l}^{-1}$  de agar.

No meio de cultivo líquido, foi colocado um papel de filtro para servir de suporte ao explante. Em seguida, os meios foram autoclavados em tubos de ensaio ( $2,5 \times 15 \text{ cm}$ ) por 15 minutos a  $120^\circ\text{C}$  e  $1,3 \text{ kg.cm}^{-2}$ . As culturas foram incubadas por cinco dias no escuro e posteriormente a  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  em 16 horas de fotoperíodo, sob luz branca fria ( $1500 \text{ lux}$ ).

## 2. Resultados e Discussão

Os explantes cultivados no meio líquido MS + 10% de água de coco foram estabelecidos com 9 a 16 dias de incubação, destacando-se a cultivar Nanição como a mais precoce (Fig. 8), seguida das cultivares Nanica e Mysore com 12 dias e as demais com 16 dias. Nos demais tratamentos, o estabelecimento dos explantes ocorreu com 20 a 30 dias de incubação e a mais tardia foi a cultivar Prata cultivada no meio MS + ( $1 \text{ mg l}^{-1}$ ) de BAP e AIA.

Os resultados mostraram que com a adição de água de coco no meio, o estabelecimento dos explantes foi mais rápido do que somente com a presença de reguladores de crescimento no meio de cultivo, conseqüentemente, favorecendo a indução mais precoce de brotações.

A diferença ocorrida no estabelecimento dos explantes dentro de cada tratamento foi provavelmente devida a variação genética existente entre as cultivares, haja visto, que tem-se observado variações nas respostas entre os génotipos.

Explantes de cultivares do grupo Cavendish foram estabelecidos com uma semana de incubação por BERG & BUSTAMANTE (4) quando adicionaram no meio

"MS" 10% de água de coco. Contudo, SWAMY et alii (30) utilizando explantes da cultivar Robusta, obtiveram o estabelecimento com três a quatro semanas de incubação no meio "MS" suplementado com  $5 \text{ mg l}^{-1}$  de AIB e 15% de água de coco.

A adição de 0,5% de PVP-10 nos meios de cultivo, resultou numa menor oxidação dos explantes no meio líquido em relação ao meio sólido (Fig. 9), tornando-se mais precoce o estabelecimento dos explantes, bem como a posterior brotação.

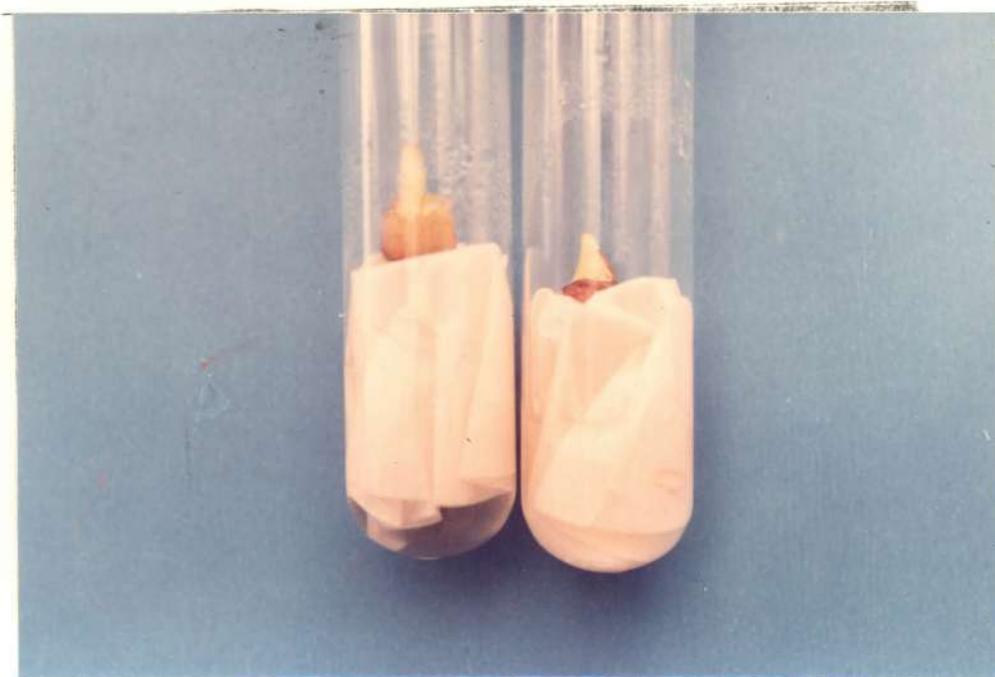


FIGURA 8 - Estabelecimento dos explantes da cv. Nanicão com 9 dias de incubação no meio líquido MS + 10% de água de coco.

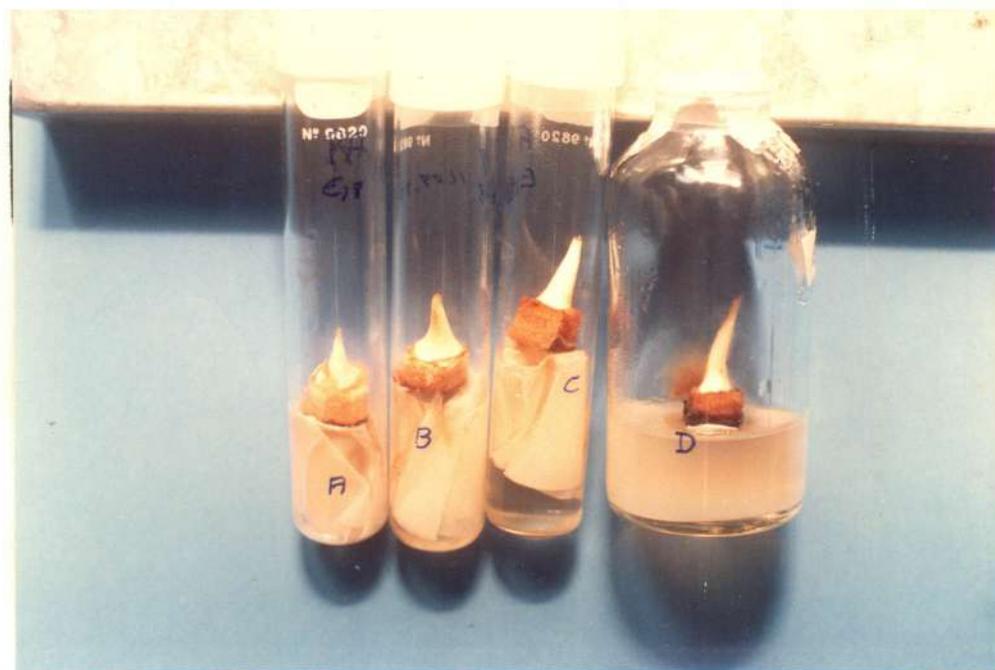


FIGURA 9 - Efeito do PVP-10 (0,5%) sobre a oxidação dos explantes nos meios de cultivo a, b e c) líquido e d) sólido.

### 3. Conclusões

- Explantes de bananeira cultivados no meio líquido MS + 10% de água de coco são estabelecidos com 9 a 16 dias de incubação, sendo a cultivar Nanica a mais precoce e a cultivar Prata a mais tardia.

- A presença de BAP e AIA, nas mesmas concentrações no meio de cultivo, retardam o estabelecimento dos explantes de bananeira.

- A oxidação dos explantes de bananeira é eliminada no meio líquido de cultivo na presença de 0,5% de PVP-10.

## RESUMO

Explantes com  $5 \text{ mm}^3$  provenientes de gemas laterais de bananeira 'Prata', foram estabelecidos com 28 dias de incubação em meio modificado de Murashige e Skoog (MS) suplementado com  $5 \text{ mg l}^{-1}$  de BAP. Posteriormente em novo meio e em concentrações de 2,5; 5,0 e  $7,5 \text{ mg l}^{-1}$  de BAP foram multiplicados e obtidos de 2 a 4 brotos por explante com  $2,5 \text{ mg l}^{-1}$  de BAP. Os brotos foram induzidos ao enraizamento com a metade das concentrações de sais minerais do meio MS, complementado com 0,1; 0,2; 1,0 e  $5,0 \text{ mg l}^{-1}$  de AIB;  $1 \text{ mg l}^{-1}$  de AIB+  $0,4 \text{ mg l}^{-1}$  de BAP e 0,25% de carvão ativado. O enraizamento ocorreu 7 dias depois em  $5 \text{ mg l}^{-1}$  de AIB. Em seguida as plântulas foram crescidas em novo meio na ausência de reguladores de crescimento e transferidas para potes plásticos contendo composto orgânico, vermiculita e macro e micronutrientes.

Explantes oriundos de mudas do tipo chifre de bananeira 'Prata' (AAB) e 'Nanicão' (AAA) com 0,5; 1,0 e  $1,5 \text{ cm}^3$  de tamanho, foram cultivados no meio básico "MS" suplementado com  $5 \text{ mg l}^{-1}$  de BAP,  $25 \text{ mg l}^{-1}$  de ácido ascórbico e 10% de água de coco. Os explantes da cultivar Nanicão foram estabelecidos com 16 dias de incubação e os da cultivar Prata com 20 dias. Após este período, os explantes foram transferidos para novo meio de cultivo semelhante ao anterior, porém sem a adição de ácido ascórbico. Os explantes com  $0,5 \text{ cm}^3$  de tamanho produziram brotos até 1 cm de comprimento com 49 dias de incubação e apresentaram menor contaminação.

Ápices caulinares de bananeira com 0,5 a 1,0 cm<sup>3</sup> provenientes de mudas do tipo chifre e chifrinho das cultivares Grande Naine (AAA), Mysore (AAB), Pacovan (AAB), Prata Anã (AAB), Prata (AAB), Nanicão (AAA), Nanica (AAA), Terra (AAB) e São Tomé (AAA), foram cultivados no meio básico "MS". Parte do meio em estado líquido foi complementado com 10% de água de coco e o restante foi dividido em três partes iguais, solidificado com 6 g l<sup>-1</sup> de agar e adicionado com 10% de água de coco, (1 mg l<sup>-1</sup>) de BAP + AIA e 10% de água de coco + 1 mg l<sup>-1</sup> de AIA. Todas as cultivares foram estabelecidas no meio líquido com 9 a 16 dias de incubação, destacando-se a cultivar Nanicão como a mais precoce e nos demais tratamentos o estabelecimento ocorreu com 20 a 30 dias de incubação e a mais tardia foi a cultivar Prata, cultivada no meio MS + (1 mg l<sup>-1</sup>) de BAP e AIA.

## SUMMARY

### IN VITRO PROPAGATION OF BANANA Musa sp FROM SHOOT TIP

Explants of banana cultivar Prata (AAB) with  $5 \text{ mm}^3$  isolated from lateral suckers were established with 28 days of incubation on a modified Murashige and Skoog (MS) medium, supplemented with  $5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP. Posteriorly were multiplied on a new medium and in concentration 2.5, 5.0 and 7.5  $\text{mg l}^{-1}$  BAP and obtained 2 at 4 shoots by explant with 2.5  $\text{mg l}^{-1}$  BAP. The shoots were induced for rooting with the half of the concentration mineral salt of "MS" medium, complemented with 0.1, 0.2, 1.0 and 5.0  $\text{mg l}^{-1}$  IBA; 1  $\text{mg l}^{-1}$  IBA+ 0.4  $\text{mg l}^{-1}$  BAP and 0.25% charcoal activated. The rooting occurred 7 days after in 5  $\text{mg l}^{-1}$  IBA. After that on a new medium the plantlets were developed and transferred for plastic pots contained organic compound, vermiculite and macro and micronutrients.

Explants of banana cultivars Prata (AAB) and Nanicão (AAA) of size 0.5, 1.0 and 1.5  $\text{cm}^3$  isolated from plant peepers were cultured in the basic culture "MS" medium, supplemented with 5  $\text{mg l}^{-1}$  BAP, 25  $\text{mg l}^{-1}$  ascorbic acid and 10% coconut water. The explants from cultivar Nanicão were established with 16 days and cultivar Prata with 20 days of incubation. The explants after this period were transferred to new culture medium similar in the absence of ascorbic acid. Shoots at 1 cm of length were produced from explants of

size  $0.5 \text{ cm}^3$  with 49 days of incubation and it presented little contamination.

Shoots tip of banana cultivar Grande Naine (AAA), Mysore (AAB), Paco van (AAB), Prata Anã (AAB), Prata (AAB), Nanicão (AAA), Nanica (AAA), Terra (AAB) and São Tomé (AAA) of size  $0.5$  at  $1.0 \text{ cm}^3$  isolated from plant peepers were cultured in the basic culture "MS" medium. Part of medium in liquid state were complemented with 10% coconut water and the resting in three equal part was divided, solidified with  $6 \text{ g l}^{-1}$  agar and added 10% coconut water,  $(1 \text{ mg l}^{-1})$  BAP + IAA and 10% coconut water +  $1 \text{ mg l}^{-1}$  IAA. The cultivars were established in the liquid medium with 9 at 16 days of incubation, the cultivar Nanicão was the more precocious and in the too treatment the established occurred 20 at 30 days of incubation and the more late was the cultivar Prata, cultured in the medium MS +  $(1 \text{ mg l}^{-1})$  BAP and IAA.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. 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, New York, 4(6):351-4, 1985.
2. \_\_\_\_\_; VUYSTEKE, D. & DE LANGHE, E. Meristem tip culture of Musa: histomorphological studies of shoot bud proliferation banana and plantain propagation. In: WITHERS, L.A. & ALDELSON, P.G. Plant tissue culture and its agricultural applications. London, Butterworth Scientific, 1985. p.139-47.
3. BARRY, F.; LAVARDE-GUIGNARD, F.; ROSSIGNOL, L. & DERMALY, Y. Developpement de pousses végétatives à partir de la culture in vitro d'explants inflorescentiels de Bananiers (Musa sp., Musacées). Fruits, Paris, 40 (7/8):459-65, 1985.
4. BERG, L.H. & BUSTAMANTE, M. Heat treatment and meristem culture for the production of virus-free bananas. Phytopathology, St. Paul, 64:320-2, 1974.
5. BOWER, J.P. & FRASER, C. Shoot tip culture of Williams bananas. Subtropics, Suhumi, 3(6):13-6, 1982.
6. COX, E.A.; STOTZKY, G. & GOOS, R.D. In vitro culture of Musa balbisiana Golla embryos. Nature, London, 185:403-4, 1960.

7. CRONAUER, S.S. & KRIKORIAN, A.D. Aseptic multiplication of banana from excised floral apices. HortScience, Alexandria, 20(4):770-1, Aug. 1985.
8. \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_. Banana (Musa spp.). In: BAJAJ, Y.P.S. Biotechnology in agriculture and forestry. Berlin, Springer-Verlag; 1986. v.1, cap.9, p.233-52.
9. \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_. Multiplication of Musa from excised stem tips. Annals of Botany, London, 53(3):321-8, 1984.
10. \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_. Rapid multiplication of banana and plantains by in vitro shoot tip culture. HortScience, Alexandria, 19(2):234-5, Apr. 1984.
11. \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_. Reinitiation of vegetative growth from aseptically cultured terminal floral apex of banana. American Journal of Botany, Columbus, 72(10):1598-601, 1985.
12. DAMASCO, D.P. & BARBA, R.C. In vitro culture of Saba banana [Musa balbisiana cv. Saba (BBB)]. Philippine Agriculture, Manila, 67:351-8, 1984.
13. DANTAS, J.L.L.; SHEPHERD, K. & ALVES, E.J. Propagação rápida da bananeira. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, 12(133):33-8, jan. 1986.
14. GIACOMETTI, D.C. Biotecnologia em fruticultura, Informativo da Sociedade Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, 5(2):15-6, jun. 1986.
15. GUPTA, P.P. Eradication of mosaic disease and rapid clonal multiplication of banana and plantains through meristem tip culture. Plant Cell Tissue Organ Culture, Netherlands, 6(1):33-9, 1986.
16. HWANG, S.C. Variation in banana plants propagated through tissue culture. Journal Chinese Society Horticulture Science, Taiwan, 32:117-25, 1986.
17. \_\_\_\_\_; CHEN, C.L.; LIN, J.C. & LIN, H.L. Cultivation of banana using plantlets from meristem culture. HortScience, Alexandria, 19(2):231-3, Apr. 1984.

18. INGRAM, D.S. Production of pathogen-free plants. In: STREET, H.E. Plant tissue and cell culture. 2 ed. Berkeley: University of California, 1977. v.2, p.494-500.
19. JARRET, R.L.; RODRIGUES, W. & FERNANDEZ, R. Evaluation, tissue culture propagation, and dissemination of 'Saba' and 'Pelipita' plantains in Costa Rica. Scientia Horticulturae, Bangalore, 26(2):137-47, 1986.
20. KRIKORIAN, A.D. & CRONAUER, S.S. Banana. In: SHARP, W.R.; EVANS, D.A.; AMMIRATO, P.V. & YAMADA, Y. Handbook of plant cell culture. New York, MacMillan, 1984. v.2, p.327-48.
21. MANTE, S. & TEPPER, H.B. Propagation of Musa textilis nee plants from apical meristem slices in vitro. Plant Cell Tissue Organ Culture, Netherlands, 2(2):151-9, 1983.
22. MOHAN RAM, H.Y. & STEWARD, F.C. The induction of growth in explanted tissue of banana fruit. Canadian Journal of Botany, Ottawa, 42:1579-95, 1964.
23. MURASHIGE, T. & SKOOG, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, Copenhagen, 15: 473-97, 1962.
24. NOVAK, F.J.; AFZA, R.; PHADVIBULYA, V.; HERMELIN, T.; BRUNNER, H. & DONINI, B. Micropropagation and radiation sensitivity in shoot tip culture of banana and plantain. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NUCLEAR TECHNIQUES AND IN VITRO CULTURE FOR PLANT IMPROVEMENT, 1, Viena, 1985. First international ... Viena, IAEA/FAO, 1985. p.19-23.
25. OUYANG, S. Tissue culture and plant regeneration of banana propagation by lateral bud and floral axis culture. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM GENETIC MANIPULATION CROPS, 1, Hunan, 1984. First international ... Hunan, Ramie Textile Institute, 1984. p.82.
26. SANDOVAL, J. Micropropagation de musáceas. ASBANA, San José, 9(24):21-3, 1985.

27. SILAYOI, B.; SAHAVACHARIN, O. & SINGBURADOM, N. Induced mutation for leaf spot disease resistance in banana. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NUCLEAR TECHNIQUES AND IN VITRO CULTURE FOR PLANT IMPROVEMENT, 1, Vienna, 1985. First international ... Vienna, IAEA/FAO, 1985. p.93.
28. SMITH, H.K. & MURASHIGE, T. In vitro development of the isolated shoot apical meristem of angiosperms. American Journal of Botany, Columbus, 57:562-8, 1970.
29. SUN, Y.F. Propagation of various Musa species by tissue culture. Journal of the Agricultural Association of China, Taiwan, (130):52-7, 1985.
30. SWAMY, R.D.; RAO, N.K.S. & CHACKO, E.K. Tissue culture propagation of banana. Scientia Horticulture, Bangalore, 18(3):247-52, 1983.
31. VESSEY, J.C. & RIVERA, J.A. Meristem culture of bananas. Turrialba, Turrialba, 31(2):162-3, abr./jun. 1981.
32. WUYLSTEKE, D. Propagation of bananas and plantains by shoot tip culture in vitro. Banana Newsletter, Australia, (6):8-10, 1983.
33. \_\_\_\_\_ & DE LANGHE, E. Feasibility of in vitro propagation of bananas and plantains. Tropical Agriculture, Trinidad, 62(4):323-8, Oct. 1985.
34. 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, Netherlands, 6(2):159-66, 1986.