### Micropropagação da Bananeira

Janay Almeida dos Santos-Serejo Antônio da Silva Souza Fernanda Vidigal Duarte Souza Tatiana Góes Junghans Lucymeire Souza Morais Lino Taliane Leila Soares Everton Hilo de Souza

#### 1. Introdução

A bananeira está entre as culturas de maior importância econômica para os países tropicais e subtropicais. O Brasil é o segundo maior produtor mundial de banana, tendo produzido cerca de 7 milhões de toneladas em 2006, em uma área plantada de aproximadamente 500 mil hectares (FAO, 2009). A renovação dos plantios e a ampliação da área cultivada são dependentes da disponibilidade de grandes quantidades de mudas com elevada qualidade fitossanitária, uma vez que o estado das mudas utilizadas vai influenciar na fitossanidade e produtividade do bananal.

As bananeiras são propagadas vegetativamente a partir de mudas provenientes de brotos laterais de plantas adultas, visto que quase todas as cultivares são triplóides ou tetraplóides e raramente produzem sementes. Entretanto, o uso desse tipo de propágulo apresenta problemas como o baixo número e desuniformidade na produção de mudas, dificultando a realização do plantio em grandes áreas, o manejo do pomar e, ainda, podendo se constituir em um mecanismo de disseminação de pragas e doenças como mal-do-panamá, broca, nematóides, vírus, moko e podridão mole.

Outros métodos de propagação in vivo, tais como o fracionamento do rizoma (Cordeiro & Soares Filho, 1991) e a propagação rápida (Dantas et al., 1986), embora apresentem uma eficiência um pouco maior, não são muito efetivos quanto à sanidade e uniformidade das mudas produzidas.

A produção em larga escala de mudas de bananeira tem sido realizada em laboratório mediante a técnica de micropropagação ou propagação in vitro a partir de ápices caulinares e/ou gemas laterais, nos quais é induzida a formação de novas brotações, em condições de cultivo controladas. Esta técnica vem sendo utilizada de maneira crescente nos últimos anos com a instalação de diversos laboratórios comerciais, permitindo, assim, um acesso mais rápido dos agricultores a mudas de melhor qualidade, tanto das cultivares tradicionais quanto dos novos híbridos desenvolvidos pelos programas de melhoramento genético.

Comparando-se os diferentes métodos de propagação vegetativa com relação ao número de mudas obtidas e ao tempo gasto na produção das mesmas (Tabela 1), verifica-se que a micropropagação é muito superior aos demais processos. Enquanto no processo convencional são necessários 12 meses para obtenção de 10 a 30 mudas, dependendo do genótipo utilizado, cerca de dez vezes mais mudas são obtidas em quase

metade do tempo mediante a micropropagação.

Além da produção de mudas em grande escala, em qualquer época do ano e com economia de tempo e espaço, as principais vantagens da micropropagação incluem: a) rápida disponibilização de um grande número de mudas de materiais selecionados; b) homogeneidade no desenvolvimento das mudas, que permite a uniformização do plantio e a sincronização da colheita; e c) obtenção de plantas com características genéticas idênticas à matriz e livres de patógenos, evitando, assim, a disseminação de pragas e doenças.

**Tabela 1.** Número de mudas e período necessário para obtenção de plantas a partir de diferentes métodos de propagação da bananeira. (Adaptado de Souza et al., 1999).

Método	Número de mudas <sup>(1)</sup>	Período (meses)	
Processo convencional	10 a 30 mudas/planta	12	
Fracionamento do rizoma	4 a 12 mudas/ rizoma	6-8	
Propagação rápida	10 a 50 mudas/ rizoma	5-6	
Propagação in vitro	150 a 300 mudas/explante	6-8	
(micropropagação)			

<sup>&</sup>lt;sup>(1)</sup> Variável de acordo com o genótipo utilizado.

Plantas oriundas da micropropagação sobrevivem mais no campo e crescem mais rapidamente nos primeiros estádios de desenvolvimento do que as de mudas convencionais (Arias, 1993). Além disso, são mais precoces na emissão de filhos e produzem mais filhos por ano (Pereira et al., 2001), têm mostrado maior precocidade no primeiro ciclo (Zerda, 1991; Scarpare Filho et al., 1998), apresentam uniformidade de produção e proporcionam colheitas superiores às das plantas advindas de propagação convencional, por serem obtidas a partir de matrizes selecionadas e estarem isentas de doenças (Drew & Smith, 1990).

Portanto, a micropropagação constitui uma ferramenta importante para a multiplicação de genótipos produtivos, com boa qualidade de frutos e tolerância/resistência a

determinadas pragas, bem como para a conservação in vitro e o intercâmbio de germoplasma.

### 2. Protocolos para Micropropagação da Bananeira

Desde os primeiros estudos desenvolvidos na década de 1980 (Cronauer & Krikorian, 1984; Vuylsteke, 1989), diferentes protocolos de micropropagação para bananeira têm sido relatados na literatura (Krikorian et al., 1999; Arinaitwe et al., 2000; Matsumoto & Silva Neto, 2003; Alves et al., 2004), inclusive os utilizados em laboratórios comerciais (biofábricas), com modificações de acordo com a conveniência. Basicamente, todos os protocolos de micropropagação envolvem as seguintes etapas: seleção de plantas matrizes e dos explantes, redução, desinfestação e estabelecimento in vitro dos explantes, multiplicação, enraizamento e aclimatização das plantas.

Neste capítulo são apresentados os protocolos de micropropagação da bananeira utilizados na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, salientando-se que ajustes devem ser realizados de acordo com o(s) genótipo(s) de interesse.

# 2.1. Seleção de Plantas Matrizes e Escolha do Tipo de Explante

A seleção da planta matriz é necessária para evitar a multiplicação de genótipos indesejáveis, uma vez que as

mudas obtidas serão geneticamente idênticas à ela. Os explantes, ou seja, os segmentos da planta que serão utilizados para o estabelecimento da cultura in vitro, devem ser retirados de plantas com características superiores e sadias, sendo fundamental o Certificado de Origem para garantir a fidelidade genética do genótipo que vai ser multiplicado.

Vale ressaltar que o manejo do matrizeiro influencia na qualidade do explante, pois quando se utiliza material vegetal oriundo de plantios excessivamente irrigados por exemplo, a ocorrência de contaminação in vitro causada por fungos e bactérias é elevada, acarretando na eliminação de grande parte dos explantes.

Após a seleção das matrizes, deve ser realizada a indexação para vírus, uma vez que as bananeiras são suscetíveis a diversas viroses, com destaque para o vírus das estrias da bananeira (Banana streak virus, BSV) e o vírus do mosaico do pepino (Cucumber mosaic virus, CMV), que nem sempre apresentam sintomas facilmente identificados (Cordeiro & Matos, 2003; Colariccio, 2005), e não são eliminados mediante o processo de micropropagação (Dahal et al., 2000; Colariccio et al., 2006).

Várias fontes de explantes têm sido utilizadas em bananeira, tais como muda do tipo chifrinho, rizoma e inflorescência masculina (Fig. 1) para a obtenção dos explantes iniciais de ápices caulinares, gemas laterais e florais, respectivamente. Além desses tipos de explantes, existem estudos para utilização de segmentos da folha como material de partida (Venkatachalam et al., 2006). Apesar das gemas florais apresentarem algumas vantagens em relação aos ápices caulinares, pois podem ser manipuladas com maior facilidade e não interferem na produção convencional de mudas, são utilizadas com menor frequência, isto porque não estão disponíveis durante o ano todo e muitos dos protocolos

sugeridos nem sempre são suficientemente detalhados e adequados a determinadas variedades, de modo a que possam ser aplicados rotineiramente.

A micropropagação por ápices caulinares tem sido a mais utilizada, tanto para a banana como para diversas outras espécies. Contudo, algumas biofábricas também utilizam as gemas laterais de bananeira quando há limitação de explantes

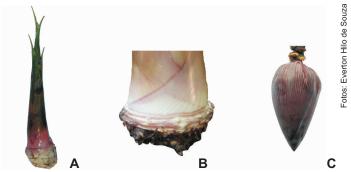


Fig. 1. Fontes de explantes utilizados para micropropagação de bananeira: muda tipo chifrinho (A), rizoma com gemas laterais (B) e inflorescência masculina (coração) (C).

# 2.2. Redução do Tamanho da Fonte de Explante e Desinfestação

A redução do tamanho da fonte de explante e a desinfestação superficial dos explantes são fatores importantes na introdução da cultura in vitro. Se esta etapa não for realizada adequadamente, todo o processo fica comprometido pela ocorrência de contaminações por fungos e/ou bactérias. O procedimento utilizado varia com o tipo de explante, mas deve ser realizado em ambiente asséptico, em câmara de fluxo laminar.

#### 2.2.1. Ápices Caulinares

Os ápices caulinares são obtidos a partir de mudas de bananeira do tipo chifrinho (20 a 30 cm de altura) ou chifre (50 a 60 cm de altura). Inicialmente são retiradas as raízes e o excesso de terra, e é realizada uma lavagem em água corrente. Em seguida, as bainhas mais externas são retiradas e o rizoma é cortado, reduzindo-se o tamanho do explante para aproximadamente 5 cm de comprimento (3 cm de pseudocaule e 2 cm de rizoma) por 2 a 3 cm de diâmetro (Fig. 2A-C). A desinfestação superficial é realizada mediante a imersão do explante em álcool comercial a 70% por 5 minutos, seguida de imersão em solução de hipoclorito de sódio (NaOCI) comercial (2% de cloro ativo) e água deionizada autoclavada, na proporção 1:1, acrescido de Tween 20 (duas gotas por litro), durante 30 minutos, e lavagem em água esterilizada por três vezes (Fig. 2D-F)

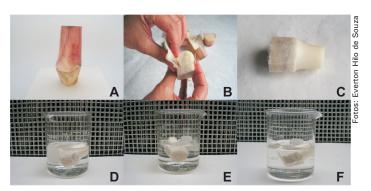


Fig. 2. Redução do tamanho da fonte de explante de ápice caulinar de bananeira (A-C) e desinfestação em câmara de fluxo laminar (D-F).

#### 2.2.2. Gemas Laterais

Neste caso, em vez de apenas a gema apical presente em mudas tipo chifre ou chifrinho, do rizoma de uma planta adulta de bananeira é possível extrair várias gemas laterais, o que agiliza o início de um processo de micropropagação em escala comercial.

A exemplo do que acontece com as mudas tipo chifrinho ou chifre, as gemas, após retiradas do rizoma, têm o tamanho reduzido e passam pelo mesmo processo de desinfestação superficial aplicado anteriormente.

#### 2.2.3. Ápice Floral

A inflorescência masculina (Fig. 1C) é coletada da planta matriz, as brácteas mais externas são retiradas e é realizada uma lavagem em água corrente. Em seguida, é feito um corte transversal aproximadamente no meio da inflorescência e elimina-se a metade inferior (Fig. 3A-B). As brácteas da metade superior são retiradas, reduzindo-se o explante para cerca de 6 cm de comprimento (Fig. 3C-D). A desinfestação superficial é realizada em câmara de fluxo laminar, borrifando-se álcool a 70% sobre o explante e flambando-o na chama da lamparina (Fig. 3E-F). Por causa deste procedimento de flambagem, deve-se ter todo cuidado para evitar acidentes e queimaduras.

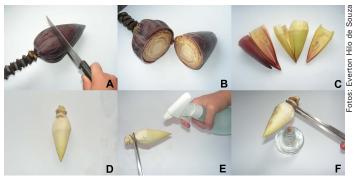


Fig. 3. Redução do tamanho de inflorescência masculina (coração) de bananeira mediante a retirada das brácteas (A-D) e desinfestação por flambagem em câmara de fluxo laminar (E-F).

#### 2.3. Estabelecimento In Vitro

Após a desinfestação, os explantes passam por sucessivas reduções mediante cortes do rizoma (Fig. 4A-B) ou retirada de bainhas (Fig. 5A-B), com o auxílio de pinças e bisturis, sobre papel esterilizado, até atingirem cerca de 1 a 2 cm de comprimento.

Vale ressaltar que o tamanho de explante a ser introduzido in vitro varia de acordo com o objetivo. Para limpeza clonal, ou seja, eliminação de vírus, utiliza-se explantes com 1 a 2 mm. Entretanto, quando o objetivo não é a limpeza clonal, são utilizados explantes de maior tamanho (1 a 2 cm), contendo o ápice caulinar juntamente com parte dos tecidos que os envolvem. Quanto maior o tamanho do explante maior a possibilidade de ocorrência de contaminações in vitro por bactérias e fungos. Em seguida, os explantes são inoculados em tubos de ensaio (2,5 x 15 cm) ou frascos (6,5 x 10 cm) contendo o meio de cultura de estabelecimento (Fig. 4C e 5C): sais minerais e vitaminas do MS (Murashige & Skoog, 1962), com 30 g/L de sacarose, sem reguladores de

crescimento, solidificado com 8 g/L de ágar ou 2,2 g/L de Phytagel e pH corrigido para 5,8 antes da autoclavagem a 1 atm por 20 minutos.



Fig. 4. Redução de ápice caulinar de bananeira até atingir 1 a 2 cm de comprimento, incluindo o rizoma que deve ficar com 1 a 2 mm de espessura, e 1 cm de diâmetro (A-B) e sua introdução em meio de cultura (C).

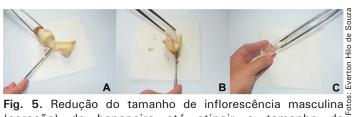


Fig. 5. Redução do tamanho de inflorescência masculina (coração) de bananeira até atingir o tamanho de aproximadamente 1 a 2 cm (B) e sua introdução em meio de cultura (C).

Após um período de 15 dias no escuro, à temperatura de  $27\pm1^{\circ}$ C, os recipientes contendo os explantes são transferidos para sala de crescimento com condições de fotoperíodo de 16 horas suprido por lâmpadas fluorescentes (30 mol/m²/s) e à mesma temperatura. Estas condições de cultivo devem ser utilizadas até o último subcultivo. O período de estabelecimento é variável de um laboratório para outro, podendo ser de 30 a 45 dias. Durante esta fase são detectados e descartados os explantes contaminados por fungos e bactérias ou mortos devido à oxidação.

#### 2.4. Multiplicação In Vitro

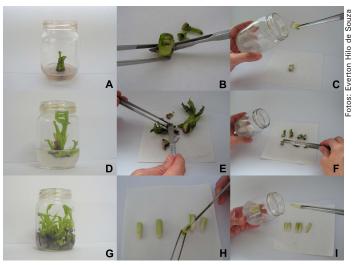
Após 30 a 45 dias no meio de estabelecimento, os explantes (ápice caulinar, gema lateral ou ápice floral) devem se apresentar intumescidos (Fig. 6A) e podem ser transferidos para frascos contendo o mesmo meio de cultura da etapa de estabelecimento acrescido de benzilaminopurina (BAP), a fim de induzir a formação de brotações ao redor do explante. A citocinina BAP é a mais eficiente na micropropagação da bananeira e suas concentrações no meio de multiplicação variam entre os laboratórios, sendo mais comumente utilizada a faixa de 2,5 mg/L a 4,4 mg/L.

Antes da transferência para o meio de multiplicação é feita uma limpeza, eliminando-se, com auxílio de pinça e bisturi, os tecidos escurecidos da base dos explantes, para controlar a liberação de polifenóis que interferem na proliferação. Em seguida, o explante é seccionado longitudinalmente em duas partes, para quebrar a dominância apical (Fig. 6B), que são introduzidas separadamente, na posição ligeiramente inclinada com a parte cortada para baixo, em frascos contendo 20 mL do meio de multiplicação (Fig. 6C).

Após 4 semanas, as brotações induzidas são divididas em segmentos contendo um ou dois brotos/gemas, os quais, após eliminação dos tecidos externos oxidados, raízes e corte da parte aérea, são transferidos para frascos contendo meio fresco com a mesma composição (Fig. 6D-F). Este procedimento é repetido por cinco ciclos (subcultivos) e proporciona um aumento em cerca de cinco vezes do número de brotos formados a cada subcultivo (Fig. 6G-I). Os brotos que são muito vigorosos também podem ser cortados longitudinalmente para estimular a proliferação.

O número de subcultivos, além de outros fatores, como o

genótipo, tipo de explante e componentes do meio de cultivo utilizado, tem influência sobre a estabilidade genética das plantas regeneradas. Quanto maior o número de subcultivos maior a probabilidade de ocorrência de plantas com alterações genéticas, ou seja, de variantes somaclonais. A realização de até cinco subcultivos é considerada uma margem segura de multiplicação para a bananeira.



**Fig. 6.** Explante de bananeira intumescido, seccionado longitudinalmente após 30-45 dias de cultivo e reintroduzido no meio de cultura (A-C), limpeza e separação dos brotos no segundo subcultivo (D-F) e procedimentos de separação dos brotos e corte, realizados do terceiro ao quinto subcultivo (G-I).

# 2.5. Alongamento e Enraizamento In Vitro

Ao final dos cinco subcultivos (ciclos de multiplicação), os brotos resultantes são individualizados e transferidos para o meio de alongamento e enraizamento (MS sem reguladores de crescimento). Nesta etapa podem ser utilizados tubos de ensaio (2,5 x 15 cm), frascos (6,5 x 10 cm) ou Magentas (7,5 x 8,5 cm), contendo, respectivamente, 15 mL, 40 mL e 65 mL de meio de cultura e onde são cultivadas 1, 5 e 16 plantas, respectivamente. As culturas são mantidas por 2 semanas em sala de crescimento.

As plantas que no quinto subcultivo já apresentam bom enraizamento e podem ser transferidas diretamente para substrato em casa de vegetação ou estufa, dispensando a etapa de enraizamento in vitro.

#### 2.6. Aclimatização em Casa de Vegetação

As plantas que apresentam duas a três folhas e boa formação de raízes são retiradas dos frascos (Fig. 7A-B) e o excesso de meio de cultura é eliminado mediante lavagem em água de torneira. As plantas são selecionadas de acordo com o tamanho e transplantadas para tubetes (Fig. 7C) ou copos plásticos descartáveis de 300 mL contendo substrato composto de terra vegetal e vermiculita (3:1) ou uma combinação de terra vegetal e fibra de coco (3:1) e mantidas em casa de vegetação ou estufa. Inicialmente as plantas podem ser cobertas com uma estrutura de plástico (câmara úmida) por 7 a 10 dias para manter a umidade elevada. Após esse período, a cobertura de plástico é removida e as mudas são irrigadas por nebulização automática (5 segundos a cada 10-15 minutos em dias quentes e a cada 30 minutos em dias com temperaturas mais amenas). Paralelamente faz-se uma irrigação manual, até as plantas atingirem o desenvolvimento adequado para o transplantio à campo, ou seja, cerca de 30 a 40 cm de altura (5 a 8 semanas).

Em uma condição mais rústica, as plantas podem ser transplantadas para copos plásticos de 300 mL, cobertas com copos plásticos de 250 mL ou colocadas dentro de uma câmara úmida confeccionada com plástico, para garantir um ambiente com umidade elevada. Após 1 a 2 semanas, as plantas podem ser transplantadas para sacos de polietileno de 20 x 28 cm e mantidas em estufa ou telado a 50% de luz para completar o desenvolvimento.

Durante o período de aclimatização é feita a eliminação de plantas que apresentem algum tipo de anormalidade, como crescimento muito lento, folhas mal formadas e muito espessas.

#### 3. Variação Somaclonal

A variação somaclonal pode ser definida como uma variabilidade genética gerada durante a cultura in vitro que permite o aparecimento de indivíduos diferentes da planta matriz (Larkin & Scowcroft, 1981). Inicialmente, houve uma expectativa de que a variação somaclonal poderia ser útil para a geração de novos genótipos com características desejáveis. Entretanto, são raros os relatos de variantes com características de interesse (Hwang & Ko, 1988; Nwauzoma et al., 2002). Na maioria dos casos, as anormalidades estão relacionadas, principalmente, à estatura da planta, coloração do pseudocaule e pecíolo, arquitetura das folhas e formação dos cachos (Israeli et al., 1991; Daniells et al. 2001), sendo, portanto, indesejáveis agronomicamente.



**Fig. 7.** Plantas enraizadas de bananeira em Magenta para aclimatização (A), separadas e lavadas para retirada do excesso do meio de cultura (B) plantadas em tubetes (C) e 30 dias após o transplantio (D).

Existem diferentes fatores que podem causar variação somaclonal em banananeira, tais como: composição do meio de cultura, taxa de multiplicação, origem do explante primário, número de subcultivos e determinados genótipos (Sahijram et al., 2003; Bairu et al., 2006). Assim, o controle da ocorrência de variação somaclonal pode ser realizado mediante o cultivo in vitro em condições apropriadas, como a utilização de baixas concentrações de reguladores de crescimento e um limite de até cinco subcultivos para multiplicação (Souza, 1994).

A identificação dos variantes somaclonais mediante o uso de diferentes técnicas (Israeli et al., 1991; Smith & Hamill, 1993; Bairu et al., 2006; Damasco et al., 1996; Ray et al., 2006; Oh et al., 2007; Venkatachalam et al., 2007) e sua eliminação antes do estabelecimento em campo, preferencialmente ainda nas condições in vitro, tem grande significado para a propagação de bananeira in vitro, haja vista

que evita um grande prejuízo econômico e a proliferação de materiais fora do padrão.

### 4. Referências Bibliográficas

ALVES, E. J.; LIMA, M. B.; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; TRINDADE, A. V. Propagação. In: BORGES, A. L., SOUZA, L. da S. (Ed.). **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 59-86.

ARIAS, O. Commercial micropropagation of banana. In: INIBAP. **Biotechnology applications for banana and plantain improvement**. Montpellier, 1993. p. 139-142.

ARINAITWE, G.; RUBAIHAYO, P. R.; MAGAMBO, M. J. S. Proliferation rate effects of cytokinins on banana (*Musa* spp.) cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 86, p. 13-21, 2000.

BAIRU, M. W.; FENNELL, C. W.; STADEN, J. van. The effect of plant growth regulators on somaclonal variation in Cavendish banana (*Musa* AAA cv. 'Zelig'). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 108, p. 347-351, 2006.

COLARICCIO, A. Principais medidas de convivência com viroses na cultura de bananeira (*Musa* spp.). In: REUNIÃO ITINERANTE DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 13., 2005, Registro. **Anais...** São Paulo: Instituto Biológico, 2005. p. 32-36.

COLARICCIO, A.; CHAVES, A. L. R.; EIRAS, M.; PALAZZO, S. R. L.; MOREIRA, S. R.; MATTOS, M. A. N. Detecção do *Banana streak virus* (BSV) em mudas de meristemas de banana importadas. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 32, p. 96-97, 2006.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P. de. Doenças da bananeira. In: FREIRE, F. C. O., CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P (Ed.). **Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 687 p.

CORDEIRO, Z. J. M.; SOARES FILHO, W. dos S. **Propagação da bananeira por fracionamento do rizoma**. Cruz das Almas, BA: Embrapa-CNPMF, 1991. 2 p. (Embrapa-CNPMF. Banana em Foco, 45).

CRONAUER, S. S.; KRIKORIAN, A. D. Multiplication potential of *Musa* from excised stem tips. **Annals of Botany**, London, v. 53, n. 3, p. 321-328, 1984.

DAHAL, G.; ORTIZ, R.; TENKKOUANO, A.; HUGHES, J. A.; THOTTAPPILLY, G.; VUYLSTEKE, D.; LOCKHART, E. B. L. Relationship between natural occurrence of banana streak badnavirus and symptom expression, relative concentration of viral antigen, and yield characteristics of some micropropagated *Musa* spp. **Plant Pathology**, Wageningen, v. 49, p. 68-79, 2000.

DAMASCO, O. P.; GODWIN, I. D.; SMITH, M. K.; ADKINS, S. W. Gibberellic acid detection of dwarf off-types in micropropagated Cavendish bananas. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Collingwood, v. 36, n. 2, p. 237-241, 1996.

DANIELLS, J.; JENNY, C.; KARAMURA, D.; TOMEKPE, K. Diversity in the Genus *Musa*. In: ARNAUD, E.; SHARROCK, S. (Ed.). **Musalogue**: a catalogue of *Musa* germplasm. Montpellier: INIBAP, 2001, 213 p. Disponível em: <a href="http://bananas.bioversityinternational.org/files/files/pdf/publications/musalogue2.pdf">http://bananas.bioversityinternational.org/files/files/pdf/publications/musalogue2.pdf</a> . Acesso em: 16 abr. 2009.

DANTAS, J. L. L.; SHEPHERD, K.; ALVES, E. J. Propagação rápida da bananeira. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 12, p. 33-38, 1986.

DREW, R. A.; SMITH, M. K. Field evaluation of tissue-cultured bananas in South-Eastern Queensland. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Collingwood, v. 30, n. 4, p. 569-574, 1990.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FaoStat. D is p o n í v e l e m : <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID = 567>. Acesso em: 14 abr. 2009.

HWANG, S. C.; KO, W. H. *In vitro* somaclonal variation in bananas and its application for screening for resistance to *Fusarium* wilt. In: PERSLEY, G. J.; DE LANGHE, E. A. (Ed.). **Banana and plantain breeding strategies**. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1987. p. 151-156.

ISRAELI, Y.; REUVENI, O.; LAHAV, E. Qualitative aspects of somaclonal variation by *in vitro* techniques. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 48, p. 71-88, 1991.

KRIKORIAN, A. D.; IRIZARRY, H.; GOENAGA, R.; SCOTT, M. E.; LOCKHART, B. E. L. Stability in plant and bunch traits of a 'French-type' dwarf plantain micropropagated from the floral axis tip and five lateral corm tips of a single mother plant: good news on the tissue culture and bad news on banana streak virus. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 81, n. 2, p. 159-177, 1999.

LARKIN, P. J.; SCOWCROFT, W. R. Somaclonal variation: a novel source of

variability from cell cultures for plant improvement. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 60, p. 197-214, 1981.

MATSUMOTO, K.; SILVA NETO, S. P. da. Micropropagation of bananas. In: JAIN, S. M.; ISHII, K. (Ed.). Micropropagation of woody trees and fruits. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2003, p. 353-380.

MURASHIGE, T.; SKOOG., F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 437-497, 1962.

NWAUZOMA, A. B.; TENKOUANO, A.; CROUCH, J. H.; PILLAY, M.; VUYLSTEKE, D.; KALIO, L. A. D. Yield and disease resistance of plantain (*Musa* spp., AAB group) somaclones in Nigeria. **Euphytica**, Dordrecht, v.123, p.323-331, 2002.

OH, T. J.; CULLIS, M. A.; KUNERT, K.; ENGELBORGHS, I.; SWENNEN, R.; CULLIS, C. A. Genomic changes associated with somaclonal variation in banana (*Musa* spp.). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 129, p.766-774, 2007.

PEREIRA, L. V.; SILVA, C. R. R; ALVARENGA, A. A. Influência do tipo de muda no comportamento vegetativo e produtivo da bananeira cv. Prata-anã. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 1, p. 164-167, 2001.

RAY, T.; DUTTA, I.; SAHA, P.; DAS, S.; ROY, S. C. Genetic stability of three economically important micropropagated banana (*Musa* spp.) cultivars of lower Indo-Gangetic plains, as assessed by RAPD and ISSR markers. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 85, p. 11-21, 2006.

SAHIJRAM, L.; SONEJI, J. R.; BOLLAMMA, K. T. Analyzing somaclonal variation in micropropagated bananas (*Musa* spp.). In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, New York, v. 39, p. 551-556, 2003.

SCARPARE FILHO, J. A.; MINAMI, K.; KLUGE, R. A.; TESSARIOLO NETO, J. Estudo do primeiro ciclo produtivo da bananeira 'Nanicão' (*Musa* sp.) desenvolvida a partir de diferentes tipos de muda. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n. 1, p. 86-93, 1998.

SMITH, M. K.; HAMILL, S. D. Early detection of dwarf off-types from micropropagated bananas. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Collingwood, v. 33, p. 639-644, 1993.

SOUZA, A. da S.; DANTAS, J. L. L.; SOUZA, F. V. D.; CORDEIRO, Z. J. M.; SILVA NETO, S. P. da. Propagação. In: ALVES, E. J. (Ed.). A cultura da bananeira: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais. 2. ed. rev. Brasília, DF: Embrapa-SPI; Cruz das Almas: Embrapa-CNPMF, 1999. p. 151-195.

SOUZA, F. V. D. Multiplicação *in vitro* da bananeira triplóide (AAA) 'Caipira' e instabilidade mitótica das plantas produzidas. 1994. 73 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola de Agronomia da Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas, 1994.

VENKATACHALAM, L.; SREEDHAR, R. V.; BHAGYALAKSHMI, N. Genetic analyses of micropropagated and regenerated plantlets of banana as assessed by RAPD and ISSR markers. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, New York, v. 43, p. 267-274, 2007.

VENKATACHALAM, L.; THIMMARAJU, R.; SREEDHAR, R. V.; BHAGYALAKSHMI, N. Direct shoot and cormlet regeneration from leaf explants of "silk" banana (AAB). In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, New York, v. 42, p. 262-269, 2006.

VUYLSTEKE, D. Shoot-tip culture for the propagation, conservation and exchange of *Musa* germplasm. Rome: IBPGR, 1989. 56 p. (IBPGR. Practical manual for handling crop germplasm *in vitro*, 2).

ZERDA, A. A. Successes and prospects in biotechnology in Colombia: the case of bananas and flowers. **Revista Nacional de Agricultura**, Bogotá, n. 897, p. 89-94, 1991.