MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

COMPORTAMENTO DE CULTIVARES DE BANANEIRA (*Musa* spp) RESISTENTES A DOENÇAS NO PROCESSO DE MICROPROPAGAÇÃO

HÉRICA SANTOS DE OLIVEIRA

BELÉM

2010

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

COMPORTAMENTO DE CULTIVARES DE BANANEIRA (*Musa* spp) RESISTENTES A DOENÇAS NO PROCESSO DE MICROPROPAGAÇÃO

HÉRICA SANTOS DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Vicente Savonitti Miranda

Co-orientador: Oriel Filgueira de Lemos

BELÉM

2010

Oliveira, Hérica Santos de

Comportamento de cultivares de bananeira (*Musa* spp) resistentes a doenças no processo de micropropagação/ Hérica Santos de Oliveira.- Belém, 2010.

79f.:il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2010.

1. Banana 2. Oxidação 3. Contaminação 4. Multiplicação *in vitro* 5. Enraizamento I. Título.

CDD – 634.772

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

COMPORTAMENTO DE CULTIVARES DE BANANEIRA (*Musa* spp) RESISTENTES A DOENÇAS NO PROCESSO DE MICROPROPAGAÇÃO

HÉRICA SANTOS DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, para a obtenção do título de **Mestre em Agronomia.**

Aprovada em 12 de fevereiro de 2010

BANCA EXAMINADORA

_____

Biólogo, DSc.,Prof. Vicente Savonitti Miranda
Presidente/Orientador
Universidade Federal Rural da Amazônia

_____

Biólogo, DSc., Prof. Roberto Cezar Lobo da Costa
1º Examinador
Universidade Federal Rural da Amazônia

_____

Biólogo, DSc., Simone de Miranda Rodrigues
2º Examinador
Embrapa Amazônia Oriental

_____

Eng. Agrônoma, DSc., Walnice Maria Oliveira do Nascimento
3º Examinador
Embrapa Amazônia Oriental

DEDICO

À Deus, meu pai celestial, que guia os meus passos todos os dias e está na frente conduzindo e realizando os meus sonhos.

Ao meu pai, Ironaldo de Jesus Ribeiro Alves de Oliveira, meu esteio, minha segurança, quem sempre confiou e apostou mais em mim do que eu mesma, e que me ensinou que na vida encontramos o caminho com muita humildade.

A minha mãe, Cleide Santos de Oliveira, minha melhor amiga, em quem confio e que sempre me anima para buscar meus ideais, a quem me ensinou e mostrou que um desafio é alcançado com seriedade, respeito e honestidade.

As minhas irmãs Hellene Samara Santos de Oliveira, Halicia Celeste Santos de Oliveira e Haline Natália Santos de Oliveira, que me incentivaram e torceram bastante.

OFEREÇO

Ao meu amigo e orientador Oriel Filgueira de Lemos, que muito me incentivou para a obtenção deste título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por tudo o que tenho, tudo o que sou e o que vier a ser.

Aos meus pais que me forneceram a educação e a possibilidade de alcançar a maior riqueza, o conhecimento.

As minhas irmãs pela compreensão e consideração nos momentos mais difíceis.

A Universidade Federal Rural da Amazônia pela oportunidade de formação como Engenheira agrônoma e também com o título de Mestre em Agronomia.

Ao CNPq pela bolsa concedida e financiamento dos estudos.

A Coordenação do Mestrado, pela oportunidade.

A Gracy Kely Monteiro, secretária do mestrado, por todo o apoio e boa vontade em ajudar.

Ao professor Antonio Rodrigues Fernandes pelos conselhos, incentivo e amizade.

Ao professor Vicente Savonitti Miranda, agradeço pelos conselhos e orientações.

A Embrapa Amazônia Oriental, especificamente ao Laboratório de Biotecnologia e Recursos Genéticos por toda infra-estrutura concedida.

Ao Dr Oriel Figueira de Lemos, não apenas meu orientador, mas meu amigo, incentivador e quem me ensinou desde a graduação a formação de um profissional, e que me mostrou que nunca devemos perder as oportunidades com muita honestidade e boa vontade.

A Dra Ilmarina Campos de Menezes, minha orientadora, amiga e em quem posso confiar, te agradeço big por todo o apoio e incentivo.

A Dra Simone de Miranda Rodrigues e Dra Elisa Ferreira Moura Cunha, por todas as orientações e sugestões.

Ao professor Roberto Cezar Lobo da Costa, pelos ensinamentos, orientações, sugestões e amizade.

Aos grandes colaboradores: José Gilberto Alves Costa, Isaias Nascimento Leite, José Carlos que contribuíram para a realização desse trabalho com muita boa vontade.

A Lisias Aline Faria pela amizade, conselhos e disposição em sempre ajudar.

As minhas queridas amigas, as bananetes Hellen Cristina da Paixão Moura e Meiciane Ferreira Campelo (a celebridade), agradeço não apenas pela grande ajuda e colaboração para a realização desse trabalho, mas principalmente pela verdadeira amizade, fraternidade e por existirem.

A amiga Lana Reis, que com sua doçura, sempre esteve pronta a ajudar em todos os momentos.

A Thália Gama, por toda a ajuda e amizade prestada.

As colegas de mestrado e laboratório: Andreia Saldanha, Joseane Cardoso, Joyce Vieira, Giselly Mota, Carla Viviane Nonato e Dayane Penna pela compreensão no desenvolvimento do trabalho

Aos meus amigos Alesandra Cardoso, Elane Lemos, Leila Márcia Amaral e Sérgio Augusto Alves por todos os ensinamentos desde o inicio do meu estágio no laboratório e que de certa forma contribuíram para a conquista desse momento.

Aos meus amigos desde a graduação Bruno Brabo, Josemar Vasconcelos , Patricia Maia , Alessandra Moraes e Kaliene Carvalho. Ao Bruno pela confiança e ajuda de sempre que precisei, ao Josemar pelo incentivo nos momentos mais dificieis, a Paty pelo exemplo de garra e coragem, a Alessandra e a Kaliene por toda a ajuda fornecida.

A minha amiga e irmã Fabrícia Kelly Cabral Moraes, por todos os momentos de medo e impaciência que sempre me tranqüilizava com sua calma e com quem podia e posso sempre contar e confiar em qualquer hora e momento.

Ao meu namorado Fabrício Costa pelo amor, incentivo e torcida.

Aos meus parentes e amigos e a todos que de alguma forma contribuíram para a realização não apenas desse trabalho, mas para chegar no mesmo. Meu muito OBRIGADA!!!!

RESUMO

A bananeira é uma das frutas mais consumidas no mundo, sendo amplamente consumida no Brasil, porém doenças como as Sigatokas negra e amarela vem reduzindo a sua produção, principalmente por falta de uma adequada tecnologia de produção. A cultura de tecidos, especificamente a micropropagação, é uma alternativa para a produção de mudas de bananeira com qualidade fitossanitária e vegetativa, mas apresenta fatores que dificultam sua aplicação. Dentre os quais, destaca-se a contaminação, por fungos e bactérias, associada à oxidação dos explantes pela exsudação de compostos fenólicos que provocam o rápido escurecimento e morte de ápices caulinares, resultando em grande perda na fase inicial de estabelecimento dos explantes. O objetivo desse trabalho foi adaptar e/ou otimizar o comportamento de diferentes cultivares de bananeira, resistentes a doenças, via micropropagação, ajustando as fases de estabelecimento da cultura *in vitro*, por meio do controle de oxidação e contaminação, proliferação/multiplicação de brotos e enraizamento, para a multiplicação rápida de plantas com qualidade superior, tanto no aspecto fitossanitário quanto vegetativo. As cultivares Bucaneiro (AAAA), Caipira (AAA), Fhia 18 (AAAB), BRS Garantida (AAAB), Japira (AAAB), Pacovan Ken (AAAB), PA 4244 (AAAB), Preciosa (AAAB), PV 03-76 (AAAB), Thap Maeo (AAB) e Tropical (AAAB) provenientes do município de Baião do estado do Pará e Caipira (AAA), BRS Caprichosa (AAAB), Pacovan Ken (AAAB), Preciosa (AAAB), PV 03-76 (AAAB), Thap Maeo (AAB), provenientes do município de Belém do Estado do Pará foram submetidas às diferentes fases do processo de micropropagação. No estudo foram utilizados o antibiótico sulfato de estreptomicina e um fungicida visando reduzir a contaminação *in vitro* provocada por bactérias e fungos, além do anti-oxidante PVP (polivinilpirrolidona) para controlar a oxidação. Houve redução da contaminação com uso do sulfato de estreptomicina à concentração de 100 $mg.L^{-1}$ e da oxidação com PVP a 4 $g.L^{-1}$. Na fase de proliferação/multiplicação de brotos, as diferentes cultivares apresentaram médias que variaram de 1,67 a 7,0 brotos/explante, com maior proliferação no cultivo inicial (2,0 a 7,0 brotos/explante). A cultivar caipira (AAA) destacou-se das demais com a maior taxa de multiplicação de brotos após os três subcultivos, média de 65 brotos por rizoma inicial, principalmente a partir dos rizomas provenientes de Baião. O meio de cultura com metade da concentração dos sais de MS foi eficiente no enraizamento de brotos tanto para a cultivar PV 03-76 quanto para a cultivar Pacovan Ken.

Palavras chaves: banana, oxidação, contaminação, multiplicação *in vitro*, enraizamento.

ABSTRACT

The banana is one of the most consumed fruits in the world and is widely consumed in Brazil, but diseases such as yellow and black Sigatoka have been reducing its production, most of all because of lack of proper production technology. The tissue culture, specifically the micropropagation, is an alternative for the production of seedlings of banana with phitosanitarium and vegetative quality, but presents factors that difficult its application. Among which stands out contamination by fungi and bacteria, associated with oxidation of the explants by the exudation of phenolic compounds that cause rapid browning and death of apical shoots, resulting in great loss in the initial phase of the explants establishment. The objective of this work was to adapt and/or optimize the behavior of different banana cultivates, resistant to diseases, via micropropagation, adjusting the *in vitro* culture establishment phases, through the control of oxidation and contamination, proliferation / multiplication of shoots and rooting, for the rapid multiplication of plants with superior quality, as much in the phitosanitarium aspect as in the vegetative. The cultivates Bucaneiro (AAAA), Caipira (AAA), Fhia 18 (AAAB), BRS Garantida (AAAB), Japira (AAAB), Pacovan Ken (AAAB), PA 4244 (AAAB), Preciosa (AAAB), PV 03-76 (AAAB), Thap Maeo (AAB) and Tropical (AAAB) proceeding from the city of Baião in the state of Pará and Caipira (AAA), BRS Caprichosa (AAAB), Pacovan Ken (AAAB), Preciosa (AAAB), PV 03-76 (AAAB), Thap Maeo (AAB) proceeding from the city of Belém in the state of Pará, were subjected to different micropropagation stages. In the study was used the streptomycin sulfate antibiotic and fungicide to reduce contamination *in vitro* caused by bacteria and fungi, besides the anti-oxidant PVP (polivinilpirrolidona) to control the oxidation. There was contamination reduction with the use of streptomycin sulfate in the concentration of 100 $mg.L^{-1}$ and of oxidation with PVP at 4 gL^{-1}. At the stage of proliferation / multiplication of shoots, the different cultivates showed means ranging from 1,67 to 7,0 shoots / explant, with greater proliferation in the initial culture (2,0 to 7,0 shoots / explant).The cultivate Caipira (AAA) stood out from the others with the highest rate of shoot multiplication after three subcultivations, 65 shoots per initial rhizome average, mostly from the rhizomes proceeding from Baião. The culture medium with half concentration of MS salts was effective in shoots rooting as much for PV 03-76 cultivate as for Pacovan to Ken cultivate.

Key Words: Banana, oxidation, contamination, *in vitro* multiplication, rooting.

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	As principais partes da bananeira.	23
2	Cachos das seguintes cultivares: 1- Caipira, 2- Thap Maeo, 3- Tropical, 4- Japira, 5- Preciosa, 6- Pacovan Ken, 7- Fhia 18, 8-BRS Caprichosa, 9-BRS Garantida, 10- PA 4244, 11- Bucaneiro, 12- PV 03-76.	27
3	Etapas desenvolvidas no trabalho para multiplicação de plantas *in vitro* de cultivares de bananeira (grupos AAA, AAB, AAAA e AAAB).	36
4	Fases do cultivo dos meristemas: 1. Em meio de estabelecimento; 2. Em Meio de indução de brotos; 3. Corte central longitudinal do ápice caulinar.	40
5	Grau de oxidação dos explantes.	42
6	Metodologia para introdução e proliferação de brotos de bananeira.	44
7	Broto da cultivar Pacovan Ken enraizado, mostrando número e comprimento das raízes em relação a parte aérea da planta após o cultivo por quatro semanas em meio de enraizamento.	47
8	Ápices Caulinares em meio de estabelecimento.	49
9	Percentual de perda por contaminação e/ou oxidação das cultivares de bananeira após duas semanas de cultivo em diferentes fases do processo de estabelecimento da cultura. ME (meio de estabelecimento), MIB (em meio de indução de brotos) e CLE (meio usado após corte longitudinal do explante).	49
10	Percentual de diferentes graus de oxidação dos explantes com duas semanas de cultivo após a inoculação em meio de estabelecimento contendo o antioxidante PVP na concentração de 4g.L-1.	50
11	Percentual do grau de oxidação dos explantes cultivados por duas semanas em meio de estabelecimento contendo o antioxidante PVP na concentração de 4g.L-1.	51

12	Percentual de perda por contaminação e/ou oxidação das cultivares de bananeira após 14 dias de cultivo em ME (meio de estabelecimento) e MIB (1) (Meio de Indução de brotos, 1° Transferência). Após 28 dias em meio MIB (2) (Meio de Indução de brotos, 2° Transferência) e CLE (meio usado após corte longitudinal do explante).	52
13	Efeito de PVP (Polivinilpirrolidona) na oxidação de explante de bananeira.	54
14	Explantes de banana submetidos a diferentes concentrações de PVP: 2 g.L-1 (T1), 3 g L-1 (T2) e 4 g.L-1 (T3).	54
15	Multiplicação de brotos.	59
16	Percentual de emissão de raiz das cultivares PV 03-76 e Pacovan Ken após quatro semanas em cultivos nos tratamentos: T1 (meio MS), T2 (meio ½ MS), T3 (meio MS e 1µM de AIB) e T4 (meio ½ MS e 1µM de AIB).	62
17	Brotos da cultivar PV 03-76 e Pacovan Ken enraizados in vitro, considerando diferentes tratamentos de meio de enraizamento: T1 (meio MS), T2 (meio ½ MS), T3 (meio MS e 1µM de AIB) e T4 (meio ½ MS e 1µM de AIB).	63

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Classificação das bananeiras que inclui outras famílias da ordem Scitaminales.	21
2	Número de mudas e período necessário para obtenção de plantas a partir de diferentes métodos de propagação da bananeira.	29
3	Percentual de oxidação de ápices caulinares de bananeira da cultivar PV 03-76 em tratamentos com diferentes concentrações de PVP.	54
4	Médias de brotos/rizoma resultantes do primeiro subcultivo de cultivares de bananeira oriundas do Município de Belém-PA.	55
5	Médias de número de brotos/rizomas e número de brotos/explante, após o segundo e terceiro subcultivos de cultivares de bananeira oriundas do Município de Belém-PA.	56
6	Médias de brotos/rizoma das cultivares de bananeira oriundas do Município de Baião-PA, ao final do primeiro subcultivo.	57
7	Médias de brotos/rizomas e brotos/explante após segundo e terceiro subcultivos de cultivares de bananeira oriundas do Município de Baião-PA.	58
8	Médias de número e do comprimento de raízes em diferentes tratamentos nas cultivares PV 03-76.	60
9	Médias de número de raízes e de comprimento de raiz em diferentes tratamentos nas cultivares Pacovan Ken.	61

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AIB	ácido indolbutírico
BAP	6-benzilamino purina (6-benziladenina)
MS	meio básico de cultura de Murashige & Skoog (1962)
PVP	polivinilpirrolidona
BSV	*Banana streak vírus*, (agente causal das estrias-da-bananeira)

SUMÁRIO

p.

LISTA DE FIGURAS..... 9

LISTA DE TABELAS..... 11

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS 12

1 INTRODUÇÃO 15

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 18

2.1 Importância socioeconômica da Banana..... 18

2.2 Origem e Distribuição Geográfica da Bananeira..... 19

2.3 Classificação Botânica da Bananeira..... 20

2.4 Evolução 21

2.5 Morfologia 22

2.6 Cultivares 24

2.7-Biotecnologia 28

2.8 Oxidação 31

2. 9 Desinfestação..... 34

2.10 Variação Somaclonal 35

3 MATERIAL E MÉTODOS..... 36

3.1 – Preparo, assepsia e estabelecimento dos ápices caulinares em cultura..... 37

3.2. Controle de Oxidação com PVP 43

3.3. Multiplicação de Brotos 44

3.4 Enraizamento 46

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 48

4.1. Estabelecimento dos ápices caulinares..... 48

4.2 Controle de Oxidação com PVP..... 53

4.3 Multiplicação de Brotos..... 55

4.4 Enraizamento..... 60

5. CONCLUSÕES..... 64

6. REFERÊNCIAS..... 65

ANEXO 79

1 INTRODUÇÃO

A bananeira está entre as culturas de maior importância econômica para os países tropicais e subtropicais. Da família das Musaceas é cultivada em todos os Estados brasileiros, desde a faixa litorânea até os planaltos do interior. Entretanto, certos fatores climáticos, como a temperatura e o regime de chuvas, impõem limites à cultura, favorecendo, por isso, sua concentração nos Estados de São Paulo, Bahia, Pará, Santa Catarina e Minas Gerais (Borges et al., 2006).

No Brasil, praticamente toda a produção de banana é consumida *in natura* e o seu cultivo tem papel fundamental na fixação da mão-de-obra rural. A banana constitui elemento importante na alimentação de populações de baixa renda, não só pelo alto valor nutritivo, mas também pelo baixo custo. Sabe-se que uma única banana supre cerca de um quarto da quantidade de vitamina C recomendada diariamente para crianças. Contém, ainda, vitaminas A e B, muito potássio (K), pouco sódio (Na) e nenhum colesterol. Além do elevado valor nutritivo, a banana tem alto significado socioeconômico, pois mobiliza um grande contingente de mão-de-obra, permite retorno rápido ao produtor e é geradora de divisas para o País (Ganga, 2002).

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de banana, com uma produção de 6.998,150 toneladas em 2008, em uma área plantada de aproximadamente 522,867 hectares (Produção Agrícola Municipal, IBGE, 2008). A renovação dos plantios e a ampliação da área cultivada são dependentes da disponibilidade de grandes quantidades de mudas com elevada qualidade fitossanitária que tem influência na fitossanidade e produtividade do bananal.

Os maiores problemas do cultivo da bananeira no Brasil são a falta de cultivares comerciais produtivas, com resistência às principais pragas e doenças (Silva et al., 2006). O Estado do Pará destacou-se, de 1998 a 2000, como o maior produtor de bananas do País. Em 2005, tornou-se o terceiro colocado, com praticamente a mesma produção do Estado da Bahia, o segundo produtor nacional. A maior parte da produção do Pará provem de áreas de agricultores familiares, com baixo nível tecnológico, e se concentra na mesorregião do Sudeste Paraense. A ocorrência de doenças tem contribuído para a baixa produtividade,

destacando-se a sigatoka-negra, sigatoka-amarela, mal-do-Panamá e moko (Poltronieri et al., 2009).

O sistema de propagação convencional da bananeira é lento e possui baixo rendimento, e recentes estudos têm mostrado que a adoção da micropropagação é uma alternativa viável para a produção comercial de mudas, aumentando de maneira considerável o número de plantas livres de pragas e doenças como o Mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporium* f. sp. *Cubense*), Moko (*Pseudomonas solanacearum*), Sigatoka-negra (*Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*), nematóide (*Radopholus similis*) e a Broca-do-rizoma (*Cosmopolites sordidus*), dentro de um curto espaço de tempo (Sá & Braga 2002).

A micropropagação da bananeira, é aplicação das técnicas de cultura de tecidos, realizada em condições controladas de laboratório com alta eficiência de multiplicação e rendimento de 150 a 300 mudas por matriz, num período de 6 a 8 meses. Outras vantagens da técnica: (1) as mudas são produzidas rapidamente em espaço físico reduzido; (2) apresentam alta qualidade fitossanitária; (3) são fáceis de serem transportadas, e (4) proporcionam uniformidade nos tratos culturais e na colheita no primeiro ciclo da cultura (Pereira et al., 2005).

Plantas de bananeira micropropagadas sobrevivem mais no campo, e crescem mais rapidamente nos primeiros estádios de desenvolvimento do que as mudas convencionais. Além disso, têm mostrado maior precocidade, florescendo até quatro meses antes das plantas convencionais, maior uniformidade de produção e proporcionam colheitas superiores (Álvares & Caldas, 2002).

A Embrapa Amazônia Oriental, desenvolve um projeto de Introdução, avaliação e propagação de cultivares de bananeira com resistência a doenças no estado do Pará que têm o intuito de introduzir, testar e multiplicar as melhores cultivares viabilizando a recomendação e o plantio desses materiais genéticos superiores no Pará, sendo necessário para isso as técnicas de cultura de tecidos, especificamente a micropropagação da bananeira, técnica utilizada neste trabalho, fazendo o mesmo parte do projeto em questão. Com isso o presente trabalho teve como objetivo adaptar e/ou otimizar o comportamento de diferentes cultivares de bananeira resistentes a doenças via micropropagação nas fases de estabelecimento da cultura *in vitro* por meio do controle de oxidação e contaminação, proliferação/multiplicação de brotos e

enraizamento, visando a multiplicação rápida de plantas com qualidade superior, tanto no aspecto fitossanitário quanto vegetativo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância socioeconômica da Banana

A banana é uma das frutas mais importantes do mundo, tanto no que se refere à produção quanto à comercialização. Para muitos países, além de ser um alimento complementar da dieta da população, apresenta grande relevância social e econômica, servindo como fonte de renda para muitas famílias de agricultores, gerando postos de trabalho, no campo e na cidade, e contribuindo para o desenvolvimento das regiões envolvidas em sua produção. Em outros países, a banana é um produto de exportação responsável por uma parte muito significativa dos ingressos relativos à exportação agrícola (Fioravanço, 2003).

A bananicultura é um dos principais produtos ligado ao agronegócio internacional, sendo a fruta fresca mais consumida no mundo, movimentando aproximadamente US$ 5 bilhões, anualmente. O Brasil é o segundo produtor mundial de banana e quase a totalidade da sua produção é destinada ao consumo interno. O agronegócio da banana é uma atividade lucrativa, desenvolvida em todo o território nacional, possuindo grande importância socioeconômica (Lima, 2003).

No Brasil, a banana é cultivada em todos os estados brasileiros, desde a faixa litorânea até os planaltos do interior, o que deixa o Brasil em segundo lugar em termos de produção mundial, atrás apenas da Índia. A maior parte da produção provém do Nordeste do país, onde é produzido 34% do volume total nacional, seguido das Regiões Norte (26%), Sudeste (24%), Sul (10%) e Centro-Oeste (6%). Ao todo, a área plantada é de cerca de 520 mil ha (Wikipedia, 2009). A bananeira diferencia-se das demais espécies de plantas frutíferas, pois apresenta um fluxo contínuo de produção a partir do primeiro ano de cultivo, atraindo os produtores que obtêm o retorno do capital investido rapidamente (Boas et al., 2002).

Segundo Manica (1998) a banana tem um grande aproveitamento, pois o fruto ainda verde é utilizado para fazer farinha de banana, tortas forrageiras ou consumido depois de cozidos. Na indústria, a banana é utilizada para o preparo de purê de banana acidificado,

néctar de banana, banana-passa, banana aromatizada, banana cristalizada, banana em calda, bananada ou doce de massa de banana, essências, vinho, vinagre, geléia e aguardente. A banana é fruta de alto valor nutritivo, muito rica em açúcar e sais minerais, principalmente cálcio, fósforo e ferro, e vitaminas A, B1, B2 e C. Fácil de digerir, pode ser dada às crianças a partir dos seis meses de idade. Como quase não tem gordura, é indicada nas dietas baixas em colesterol. Pode ser consumida ao natural, como sobremesa, ou ser usada nos mais variados tipos de prato: salada de frutas, bolos, tortas, vitaminas, sorvetes, mingaus, recheios de aves e carnes, farofas, musses e sanduíches.

2.2 Origem e Distribuição Geográfica da Bananeira

Não se pode indicar com exatidão a origem da bananeira, pois ela se perde na mitologia grega e indiana. Atualmente, admiti-se que seja originária do Oriente, sul da China ou Indochina. Há referências da sua presença na Índia, Malásia ou Filipinas, onde tem sido cultivada há mais de 4.000 anos (Moreira, 1987).

Segundo Moreira (1999), as bananeiras existem no Brasil desde antes do seu descobrimento. Quando Pedro Álvares Cabral aqui chegou, encontrou os indígenas comendo *in natura* bananas de uma cultivar muito digestiva que se supõe tratar-se da ‘Branca’ e outra, rica em amido, que precisava ser cozido antes do consumo, chamada de ‘Pacoba’ que deve ser a cultivar Pacovan. A palavra pacoba, em guarani, significa banana. Com o decorrer do tempo, verificou-se que o ‘Branca’ predominava na Região Litorânea e o ‘Pacovan’, na Amazônica.

É admitido que a maioria das cultivares de bananeira (*Musa* spp.) tenha se originado no Sudoeste Asiático, ainda que haja outros centros de origem secundários como África Oriental e ilhas do Pacífico, além de um importante centro de diversidade na África Ocidental (Castro et al., 2008).

2.3 Classificação Botânica da Bananeira

Conforme a sistemática botânica de classificação hierárquica, as bananeiras produtoras de frutos comestíveis são plantas de classe das Monocotiledôneas, ordem Scitaminales, família Musacea, onde se encontram as subfamílias Heliconioideae, Strelitzioideae e Musoideae. Esta última inclui, além do gênero *Ensete*, o gênero *Musa*, constituído por quatro séries ou seções: Australimusa, Callimusa, Rhodochlamys e (Eu-) Musa (Simmonds,1973). Dentro do gênero *Musa* existem no mínimo duas espécies, *M. ingens* (2n=14) e *M. beccarii* (2n=18), que não são classificáveis nestas seções. A separação entre (Eu-) Musa e Rhodochlamys é artificial e não reflete bem os graus de isolamento reprodutivo (Shepherd, 1990). A seção (Eu-) Musa é a mais importante, pois, além de ser formada pelo maior número de espécies do gênero, apresenta ampla distribuição geográfica e abrange as espécies de bananas comestíveis (Alves 1999).

A classificação proposta por Cheesman (1948) para o gênero *Musa*, e aceita atualmente em todo o mundo, baseia-se no número básico de cromossomas, que o divide em dois grupos: espécies com n=10 cromossomas, que pertencem às seções Australimusa e Callimusa; e espécies com n=11 cromossomas, que integram as seções Rhodochalamys e (Eu-) Musa. As espécies componentes dessas duas últimas seções são as que apresentam potencialidade como germoplasma útil para o melhoramento genético das variedades atualmente cultivadas. Segundo Shepherd (1990), essas espécies são: a) Seção Rhodochlamys: *M. ornata* Roxburgh, *M. velutina* Wendl & Drude, *M. laterita* Cheesman, *M. rubra* e *M. sanguinea*; b) Seção (Eu-) Musa: *M. acuminata* Colla, *M. flaviflora* Simmonds, *M. ochracea* Shepherd, *M. schizocarpa* Simmonds, *M. halabanensis* Meijer e *M. balbisiana* Colla (Tabela 1).

Tabela 1: Classificação das bananeiras que inclui outras famílias da ordem Scitaminales.

Classe	Ordem	Família	Subfamília	Gênero	Série ou Seção
Monocotyledoneae	Scitaminales	Musaceae	Musoideae	Musa	Australimusa, Callimusa Rhodochlamys, Eu-Musa
				Ensete	
			Strelitzioideae	Strelitzia	
				Phanekospernum	
				Ravenala	
			Heliconioideae	Heliconia	
		Lowiaceae	Lowia	Orchidantha	
		Zingiberaceae			
		Maranthaceae			
		Cannaceae			

Fonte: Alves (1999).

2.4 Evolução

Na evolução das bananeiras comestíveis participaram principalmente as espécies diplóides selvagens *M. acuminata* Colla e *M. balbisiana* Colla, de modo que cada cultivar pode conter combinações variadas de genoma completo dessas espécies. Esses genomas são denominados pelas letras A (*M. acuminata*) e B (*M. balbisiana*), cujas combinações resultam grupos diplóides (AA, BB e AB), triplóides (AAA, AAB e ABB) e tetraplóides (AAAA, AAAB, AABB, ABBB) (Figueiredo & Brioso, 2007).

A evolução da bananeira se processou em quatro etapas: 1) Ocorrência de partenocarpia por mutação, 2) Hibridação entre cultivares do grupo AA e plantas selvagens de *Musa balbisiana* (BB), 3 e 4) Cruzamentos envolvendo gametas masculinos haplóides e femininos com a mesma constituição cromossômica da planta genitora feminina formando respectivamente, indivíduos triplóides e tetraplóides. Grupo genômico é uma expressão

empregada na abordagem da nomenclatura da bananeira para designar cada combinação específica entre o número básico de cromossomos das espécies *Musa acuminata* (AA) e *Musa balbisiana* (BB). Subgrupo, em bananeira, é um termo utilizado para abranger um conjunto de cultivares originadas por mutação do mesmo genótipo. Os subgrupos mais comuns são: Cavendish, Gros Michel, Prata, Terra e Figo. As plantas do grupo genômico AA são normalmente delgadas, apresentando pseudocaule com muitas manchas escuras e folhas eretas e estreitas, com a base do pecíolo aberta. As plantas do grupo genômico BB apresentam cerosidade, pseudocaule sem manchas, folhas com a base do pecíolo fechada e frutos com quinas evidentes. As plantas do grupo genômico AAA são semelhantes às do grupo AA, normalmente mais vigorosas, apresentando manchas escuras no pseudocaule, pecíolos com base aberta e pigmentação opaca na face interna das brácteas masculinas. As plantas do grupo genômico AAB apresentam, geralmente, poucas manchas escuras no pseudocaule, pecíolos com margens eretas e pigmentação brilhante na face interna das brácteas masculinas. As plantas do grupo genômico ABB apresentam cerosidade, pseudocaule praticamente sem manchas, pecíolos com base fechada, pigmentação brilhante na face interna das brácteas masculinas e frutos com três quinas bem evidentes. As plantas do grupo genômico AAAA apresentam características semelhantes às do grupo genômico AAA, com algumas variações que dependem da origem do tetraplóide. As plantas do grupo genômico AAAB são muito vigorosas e apresentam características intermediárias entre as características dos grupos genômicos AAA e AAB. As plantas do grupo genômico AABB são semelhantes às do grupo ABB, sendo rústicas e produtivas. Na classificação de acessos desconhecidos de bananeira, devem-se determinar, inicialmente, o número de cromossomos e a presença dos genomas A e B, para fazer a distinção entre diplóides, triplóides e tetraplóides. Caso não se disponha de infra-estrutura adequada para a contagem dos cromossomos ou para a detecção dos genomas A e B, é possível obter algum indício sobre a ploidia da planta ou a presença dos genomas A e B mediante o emprego de caracteres morfológicos (Lima et al., 2003).

2.5 Morfologia

As principais partes da bananeira são: sistema radicular, caule subterrâneo (rizoma), pseudocaule (tronco), folhas e o cacho (engaço, raque e coração).

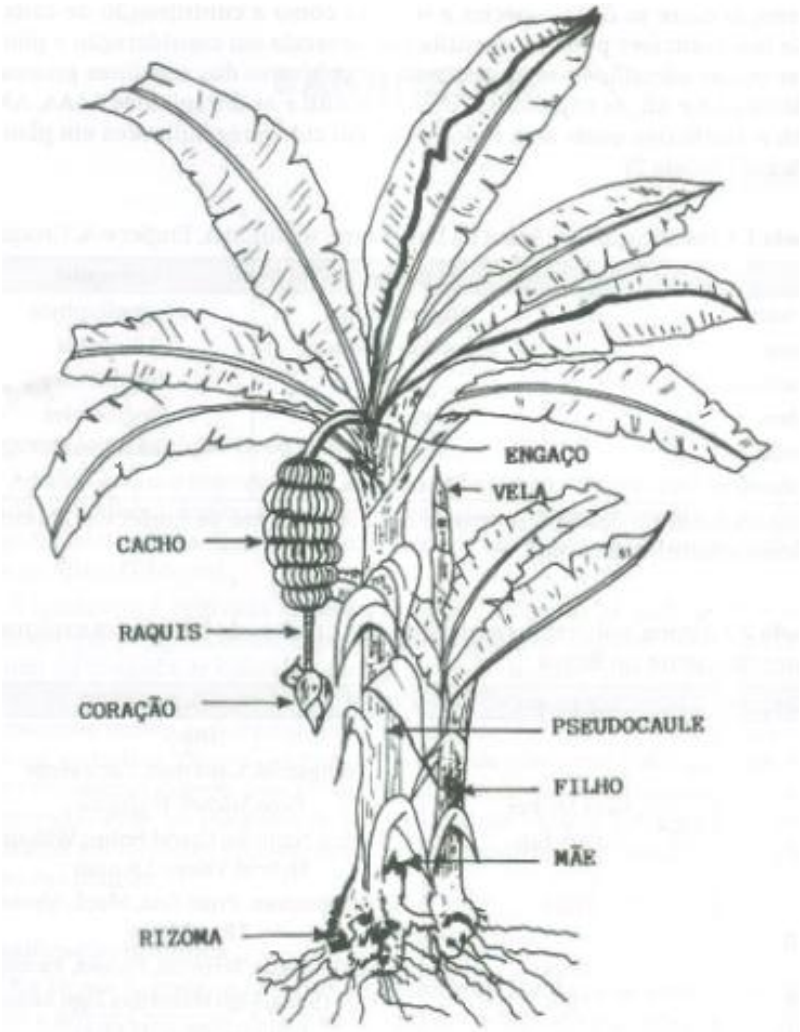


Figura 1. As principais partes da bananeira. **Fonte:** Castro et al. 2008.

As raízes da bananeira são inicialmente fasciculadas, apresentando-se suberosas quando maduras. De comprimento variável, podem atingir de 5 a 10 m, dependendo do genótipo e das condições edáficas. Em geral, 70% das raízes são encontradas a uma profundidade de até 20 cm. O rizoma é definido morfologicamente como um caule horizontal que desenvolve folhas na parte superior e raízes adventícias na parte inferior. Um rizoma é constituído de duas zonas: o córtex, que desempenha um papel de proteção, e o cilindro central, de onde o sistema radicular e a parte aérea originam-se. Cortando um rizoma longitudinalmente, observa-se a gema apical de crescimento localizada no centro de uma região de formato cônico, denominada colo da bananeira. O pseudocaule, estrutura constituída pelas bainhas das folhas da bananeira, corresponde ao que é normalmente denominado caule ou tronco da bananeira. A folha da bananeira constitui-se de bainha foliar, pseudopecíolo, nervura central e limbo foliar. As bainhas das folhas da bananeira se fixam no rizoma de

forma concêntrica, gerando arcos cujas extremidades não se tocam e determinando o aparecimento de um ponto em que se observa um pequeno conjunto de células denominado gema lateral de brotação. A gema apical sofre sucessivas bipartições, dando origem a uma folha com gema lateral de brotação. A bananeira, assim, apresenta tantas gemas laterais quantas forem as folhas geradas. A produção de folhas de uma bananeira compreende o período que se estende do plantio ao florescimento, momento a partir do qual o processo cessa. As partes do cacho são o pedúnculo (engaço), a raque, a inflorescência feminina, a inflorescência hermafrodita e a inflorescência masculina. Os frutos da bananeira se originam das flores localizadas na inflorescência feminina. O coração da bananeira é a estrutura que compreende a inflorescência masculina (Lima et al., 2003).

2.6 Cultivares

A maioria das cultivares de bananeira originou-se no Sudoeste do Continente Asiático. As cultivares de banana mais difundidas no Brasil são: Prata, Pacovan, Prata Anã, Maça, Mysore, Terra e D'Angola, do grupo AAB, utilizadas unicamente para o mercado interno; e Nanica, Nanicão e Grande Naine, do grupo AAA, usadas principalmente para exportação. Em menor escala, são plantadas a 'Ouro' (AA), a 'Figo Cinza' e a 'Figo Vermelho' (ABB), a 'Caru Verde' e a 'Caru Roxa' (AAA). As variedades Prata, Prata Anã e Pacovan são responsáveis por aproximadamente 60% da área cultivada com banana no Brasil. As bananas 'Pacovan', 'Prata', 'Terra' e Mysore apresentam porte alto. A banana 'Maçã' é altamente suscetível ao mal-do-panamá; as cultivares Nanica, Nanicão, Grande Naine, Terra e D'Angola apresentam alta suscetibilidade aos nematóides; e a 'Mysore' está infectada com BSV (*Banana streak vírus,*agente causal das estrias-da-bananeira). Todas essas cultivares são suscetíveis ao moko e, à exceção da 'Mysore', são também susceptíveis à sigatoka-negra (Borges et al., 2006).

As principais doenças que afetam a bananicultura brasileira e mundial são: sigatoka-amarela, sigatoka- negra, mal-do-panamá, moko, viroses (topo-em-leque, mosaico e estrias). Doenças de frutos (manchas de frutos, podridão-da-coroa e antracnose). Nematoses (nematóide-cavernícola, nematóide-das-galhas, das lesões radiculares e espiralados). Segundo

Siviero & Ledo, (2002) a sigatoka-amarela, a sigatoka-negra, juntamente com o mal-do-panamá e o moko da bananeira, são as mais importantes doenças da bananeira do Brasil.

Segundo Borges et al. (2006), nos últimos anos o Programa de Melhoramento Genético da Bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (PMG Bananeira) tem recomendado, em parceira com outras instituições ou não, uma série de novas cultivares, as quais são descritas a seguir (Figura 2).

Caipira: pertencente ao grupo AAA, de porte médio a alto, frutos pequenos e muito doces. Possui resistência à sigatoka-negra, à sigatoka-amarela, ao mal-do-panamá e à broca-do-rizoma.

Thap Maeo: do grupo AAB, é cultivar variante da 'Mysore'. É rústica, apresenta porte médio a alto, frutos pequenos, resistência às sigatocas amarela e negra e ao mal-do-panamá, além de baixa incidência de broca-do-rizoma e de nematóides.

Bucaneiro: híbrido tetraplóide (AAAA), tipo *Gros Michel*, derivado de *Highgate*, porte médio a alto, resistente ao mal-do-panamá e a sigatoka negra.

Tropical: híbrido do grupo AAAB da variedade Yangambi n°2, com frutos do tipo 'Maça'. Possui porte médio a alto. Os frutos grandes, grossos e com sabor semelhante aos da variedade Maçã. A 'Tropical', além de resistente á sigatoca-amarela, é tolerante ao mal-do-panamá.

Japira, Preciosa e Pacovan Ken: híbridos de Pacovan do grupo AAAB. Possuem porte alto, apresentam número, tamanho, teores de açúcar na polpa de frutos e produtividade superiores aos da 'Pacovan'. Além de resistentes à sigatoka-negra, apresentam resistência à sigatoka-amarela e ao mal-do-panamá. A depender da localidade, uma dessas cultivares pode comportar-se melhor que a outra.

Fhia-18: é cultivar tetraplóide AAAB, híbrido da prata-anã é bananeira geneticamente alterada a partir de uma variedade originária de Honduras, apresenta porte médio, ciclo vegetativo de 353 dias, perfilhamento bom, os cachos podem atingir até 40 Kg, com mais de 10 pencas, possui frutos mais doces que os da Prata Anã e resistência à sigatoca-negra, principal doença da bananeira.

BRS Caprichosa: tetraplóide AAAB resultante do cruzamento do diplóide (AA) M-53 com plantas da cultivar prata comum (AAB), além de resistente à Sigatoka-negra e ao mal-do-Panamá, apresenta rendimento agronômico até cinco vezes superior à cultivar prata comum. Seus frutos quando maduros a casca tem coloração amarelo intensa, polpa de coloração creme, com sabor e textura idênticos à cultivar prata comum e são também resistentes ao despencamento quando comparados a essa cultivar.

BRS Garantida: é um tetraplóide do grupo genômico AAAB, resultante do cruzamento do diplóide (AA) M-53 com a cultivar Prata São Tomé (AAB), e foi avaliada com relação a resistência à Sigatoka-amarela e ao mal-do-Panamá, em Cruz das Almas, BA, e com relação à Sigatoka-negra, em Manaus, AM.

PV 03-76: resultante híbrido tetraplóides (AAAB), mediante cruzamento de diplóide (AA) e cultivares triplóide (AAB) com boa produtividade. A variedade encontra-se em fase de avaliação em diferentes condições edafoclimáticas no Estado do Pará com características de resistência à sigatoka-negra.

PA 4244: híbrido tetraplóide (AAAB), tipo Prata, (Prata anã x M53), resistente a sigatokas amarela e negra.

A escolha da cultivar de bananeira depende da preferência do mercado consumidor e do destino da produção (indústria ou consumo *in natura*). Existem quatro padrões ou tipos principais de cultivares de bananeira: Prata, Maçã, Cavendish (Banana D'Água ou Caturra) e Terra. Dentro de cada tipo há uma ou mais cultivares. Para o caso específico do Estado do Pará, é proposto um sistema para o cultivo de novas cultivares resistentes às principais doenças. Foram escolhidas as cultivares Caipira, Thap Maeo, Pacovan Ken e FHIA 21, todas rersistentes à Sigatoka-amarela, Sigatoka negra e ao mal-do-Panamá (Sistema de Produção de banana para o Estado do Pará - 2003).

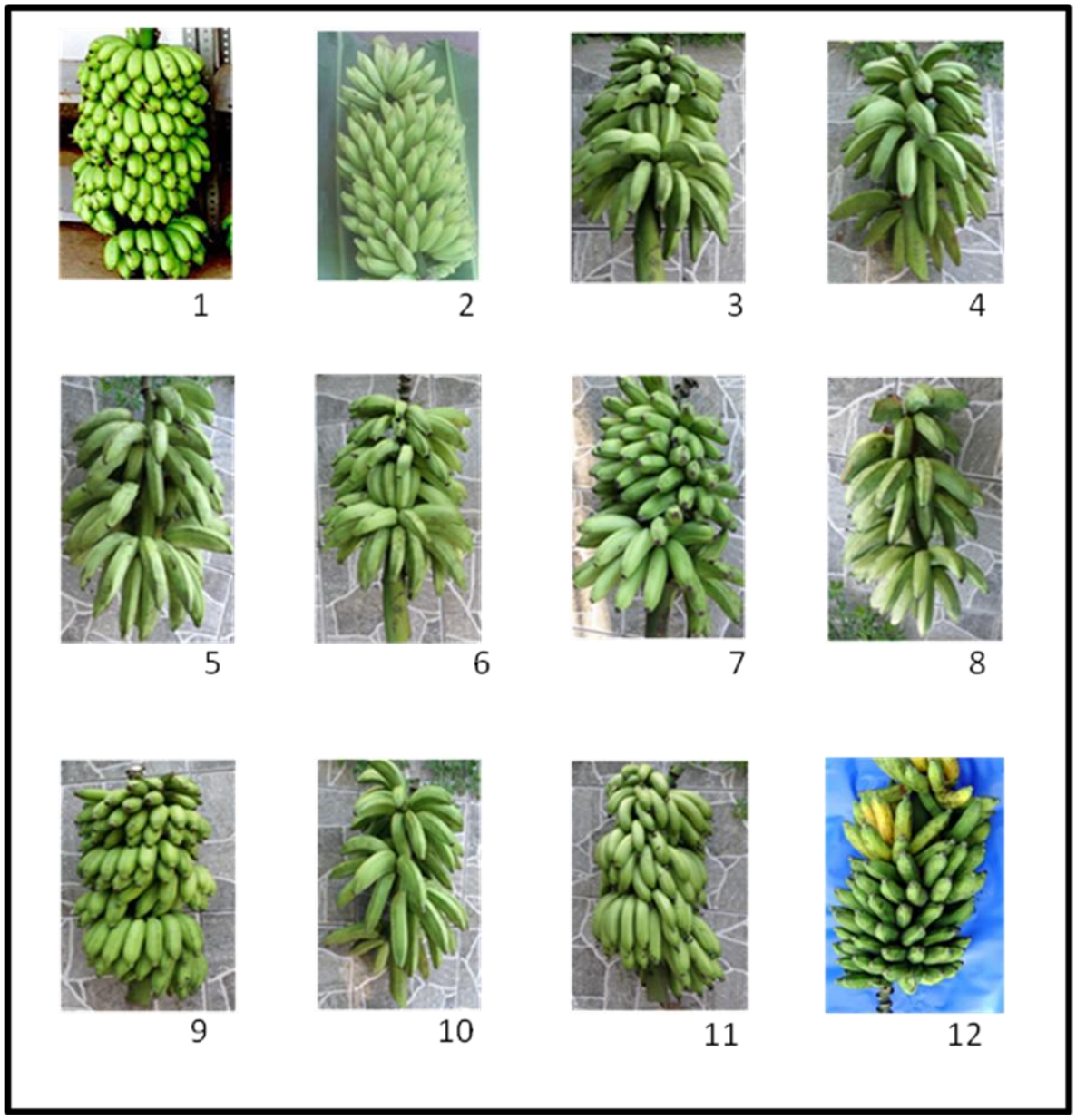


Figura 2. Cachos das seguintes cultivares: 1- Caipira, 2- Thap Maeo, 3- Tropical, 4- Japira, 5- Preciosa, 6- Pacovan Ken, 7- Fhia 18, 8-BRS Caprichosa, 9- BRS Garantida, 10- PA 4244, 11- Bucaneiro, 12- PV 03-76.

2.7 Biotecnologia

A cultura de tecidos de plantas pode ser definida como sendo cultura de células, tecidos e órgãos vegetais em condições assépticas. A técnica se baseia no fenômeno da totipotência. Teoricamente, todas as células vegetais possuem a característica da totipotência. No entanto, a expressão da totipotencialidade está diretamente relacionada com a quantidade de tecido meristemático contido no explante. Por esta razão, ápices caulinares e gemas laterais são melhores explantes para regeneração de novas plantas, quando comparados com segmentos de folhas e hastes (Criar e Plantar, 2008). A cultura de tecidos vegetais é uma ferramenta com alto potencial para aplicação no melhoramento vegetal. Ela pode ser utilizada desde a multiplicação de material genético, para troca e avaliação de germoplasma, até a produção de mudas livres de vírus (Andrade, 2002).

A maioria das cultivares de *Musa* spp. são triplóides e apresentam diferentes graus de esterilidade, o que dificulta o melhoramento genético por métodos convencionais. A baixa disponibilidade de variedades produtivas e resistentes as principais doenças e as dificuldades na hibridação tem levado ao desenvolvimento de alternativas para a criação de novas cultivares, de forma a complementar e dar suporte às atividades convencionais de melhoramento, incluindo a engenharia genética. Embora a transgenia apresente um grande potencial para obtenção de novas cultivares, outras técnicas de biotecnologia oferecem um leque de outras opções que podem ser aplicadas como um auxílio complementar na geração de novas cultivares de *Musa*. Dentre essas técnicas, a cultura de embrião e a micropropagação da bananeira estão bem estabelecidas e têm contribuído para a conservação de germoplasma e melhoramento genético, exercendo um impacto significativo no tempo de obtenção de uma nova variedade (Santos-Serejo et al., 2006).

Um dos problemas que ocorre no cultivo da banana é o fato da propagação vegetativa convencional apresentar baixas taxas de multiplicação, com riscos de disseminação de patógenos. Por essa razão, a técnica da micropropagação foi desenvolvida a fim de produzir mudas sadias e em número mais elevado que os métodos convencionais (Lima et al., 2003). As técnicas de propagação *in vitro* de bananeira foram desenvolvidas no início da década de 80 (Cronauer & Krikorian, 1984; Banerjee & De Langhe, 1985) e atualmente estão bem estabelecidas para a grande maioria dos genótipos (Santos-Serejo et al., 2006).

A produção em larga escala de mudas de bananeira tem sido realizada em laboratório mediante a técnica da micropropagação 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 para a bananeira nos últimos anos com a instalação de diversos laboratórios comerciais, permitindo, assim, a aquisição de mudas micropropagadas de melhor qualidade pelos agricultores, tanto das cultivares tradicionais quanto dos novos híbridos desenvolvidos pelos programas de melhoramento genético (Castro et al., 2009).

Comparando-se os diferentes métodos de propagação vegetativa com relação ao número de mudas obtidas e ao tempo gasto na produção das mesmas, verifica-se que a obtenção de mudas via micropropagação é muito superior que os 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 (Tabela 2).

Tabela 2. Número de mudas e período necessário para obtenção de plantas a partir de diferentes métodos de propagação da bananeira.

Método	**Número de Mudas[(1)]**	**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
Micropropagação	150 a 300 mudas/explante	6-8

[(1)]Variável de acordo com o genótipo utilizado (Fonte: Castro et al., 2009).

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; permitindo o estabelecimento de um bananal mais uniforme, facilitando o planejamento das práticas culturais, e o manejo das bananeiras, pois as mudas manterão o mesmo padrão de desenvolvimento; e c) obtenção de plantas com características

genéticas idênticas à matriz e livres de patógenos, evitando, assim, a disseminação de pragas e doenças em novas áreas de plantio.

Plantas oriundas da micropropagação são mais precoces na emissão de filhos e produzem mais filhos por ano, com maior precocidade no primeiro ciclo, uniformidade de produção apresentando colheitas superiores às das plantas advindas via propagação convencional, visto serem obtidas a partir de matrizes selecionadas e estarem isentas de doenças (Zerda, 1991; Scarpare Filho et al., 1998, Pereira et al., 2001, Castro et al., 2009).

Portanto, a micropropagação constitui uma ferramenta importante para a multiplicação de genótipos produtivos, com boa qualidade de frutos e resistência a determinadas pragas, bem como para a conservação *in vitro* e o intercâmbio de germoplasma. A muda micropropagada é certificada quanto à sua fitossanidade, o que lhe confere vantagem sobre a muda convencional. Além do que é padronizada, originando plantas com desenvolvimento homogêneo, facilitando o manejo do bananal e resultando em maior produtividade e menor custo de produção. Chega a ser 30% mais produtiva que a muda convencional, desde que as práticas culturais e os tratos fitossanitários sejam realizados adequadamente (Lima et al., 2003).

Desde os primeiros estudos desenvolvidos na década de 1980, diferentes protocolos de micropropagação para bananeira têm sido relatados na literatura (Cronauer & Krikorian, 1984; Vuylsteke, 1989, Krikorian et al., 1999; Arinaitwe et al., 2000; Matsumoto & Silva Neto, 2003).

Segundo Castro et al. (2009), basicamente todos os protocolos de micropropagação envolvem as seguintes etapas: seleção de plantas matrizes e dos explantes, limpeza e assepsia do material vegetal, estabelecimento da cultura *in vitro*, multiplicação *in vitro*, enraizamento *in vitro* e aclimatização das plantas.

A principal fonte de explantes são plantas pequenas (tipo chifre) a partir da qual são extraídos os ápices caulinares (Lameira et al., 2000).

Vários trabalhos foram desenvolvidos usando a cultura de tecidos como ferramenta para o melhoramento da banana, entre estes podemos citar o trabalho realizado por Braga et al. (2001), em que o objetivo foi avaliar o desempenho da cultivar Caipira (AAA) submetido nas subculturas de estabelecimento e multiplicação ao meio de MS (Murashige e Skoog,

1962) + 5 mg/L de BAP e, na de enraizamento, 50%MS sem BAP.Como resultado obteve-se mudas de alta qualidade genética e fitossanitária, com eficiência maior que os sistemas tradicionais de produção de mudas a campo. Oliveira et al. (2001), com o objetivo de desenvolver um procedimento eficiente para a produção de mudas de bananeiras tetraplóides (*Musa* sp. cv. FHIA-01, grupo AAAB), estudaram o comportamento *in vitro* de clones no desenvolvimento dos explantes. Os resultados mostraram que 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 somaclonais em condições de casa-de-vegetação. Baseado nesses trabalhos, foi observado que a micropropagação atua de forma a produzir plantas de alta qualidade genética e fitossanitária e sem variantes somaclonais o que facilita a uniformidade da produção mostrando o melhoramento da cultura.

2.8 Oxidação

Existem alguns fatores que limitam, em parte, o processo de micropropagação de algumas cultivares de bananeira e que interferem principalmente na taxa de multiplicação, entre os quais, temos a alta taxa de oxidação dos explantes, a qual é caracterizada pelo escurecimento das partes excisadas dos explantes e do meio de cultivo, influenciando na absorção dos constituintes do meio pelo explante em virtude da obstrução do tecido oxidado. Tal oxidação é resultante da liberação de compostos fenólicos *in vitro*, precursores da síntese de lignina pelo tecido injuriado. Os compostos fenólicos sofrem oxidação pelas enzimas polifenases, produzindo substâncias tóxicas que normalmente inibem o crescimento dos explantes, ocasionando, a morte dos mesmos (Costa et al., 2006).

A oxidação fenólica pode ser minimizada pela redução de danos mecânicos e químicos nos explantes, pela modificação de ambientes, e/ou pelo uso de antioxidantes (Bassan et al., 2006). Na redução dos danos mecânicos e químicos ao explante, durante a excisão e esterilização, deve-se tomar os devidos cuidados para que os danos físicos e químicos ao explante sejam minimizados. Em alguns casos, o uso de cloreto de mercúrio resulta num menor dano e oxidação do tecido (Ziv & Halevy, 1983).

A remoção dos polifenóis oxidados imediatamente após a desinfestação contribui para redução da oxidação em fases posteriores de cultivo. A lavagem do explante por 2 a 3 horas pode contribuir para reduzir a exudação e oxidação posterior durante o cultivo (Lane, 1978). Outra medida bastante eficaz na remoção dos fenóis oxidados consiste na transferência do explante para meios frescos a cada 1 a 4 semanas de cultivo. Para aqueles casos em que se observa intenso escurecimento em volta do explante, é necessária a transferência para meios frescos ou mesmo a mudança de lugar do explante dentro do mesmo frasco de cultura.

O ágar parece contribuir para uma maior oxidação dos explantes e esta oxidação está associada a quantidade de ágar utilizado. A redução da concentração de ágar de 0,8 para 0,4% pode resultar numa redução substancial da oxidação. Da mesma forma, o uso de agarose e, principalmente, “gelrite” ou “phytagel” contribui significativamente para a redução do nível de oxidação fenólica. A lavagem do ágar com água deionisada contribui adicionalmente para uma menor oxidação dos tecidos injuriados (Alves, 2007).

A utilização de diversos antioxidantes é relatada na literatura, tanto para bananeira quanto para outras culturas, como alternativa para a diminuição do processo de oxidação. Recomenda-se a adição dessas substâncias ao meio de cultivo ou durante o pré-tratamento, em solução de antioxidantes, para diminuição da oxidação (Camolesi et al., 2007).

Segundo Van Winkle et al. (2003) dentre os antioxidantes usados, destaca-se o carvão ativado, um componente que tem sido freqüentemente adicionado aos meios de cultura de tecidos vegetais com sucesso. O carvão ativado, usado como substância antioxidante, apresenta cargas residuais, as quais são capazes de adsorver substâncias fenólicas ou seus produtos da oxidação, as quinonas. O uso de carvão ativado, contudo, pode adsorver outras substâncias do meio nutritivo tais como os reguladores de crescimento, acarretando efeitos indesejáveis ao cultivo. Uma alternativa para estes casos é ajustar a concentração de reguladores de crescimento de tal forma a se obter o efeito desejado.

Em trabalhos realizados por Costa et al. (2006) a adição de carvão ativado ao meio de cultura MS reduz significativamente a taxa de multiplicação e o nível de oxidação de brotações de bananeira, cultivar Grande Naine. Para evitar a oxidação em explantes de bananeira, Gupta (1986) testou a ação do ácido ascórbico, ácido cítrico e carvão ativado, observando que o agente antioxidante mais efetivo foi o ácido ascórbico. Resultados semelhantes tinham sido obtidos por Vuylsteke & De Langhe (1985).

Camolesi et al. (2007) utilizaram a combinação dos antioxidantes, ácido cítrico e citrato de potássio; no controle da oxidação *in vitro* de ápices caulinares de bananeira cultivar Maçã pré-tratados com essas substâncias. Outros antioxidantes foram testados em pré-tratamento de ápices caulinares de bananeira sendo que Jarret et al. (1985), realizando uma rápida imersão dos ápices caulinares em solução de 50 mg L^{-1} de cisteína, antes da inoculação no meio de cultivo, também observaram redução no escurecimento dos ápices caulinares e na coloração do meio de cultivo.

O PVP (polivinilpirrolidona) é outro antioxidante que tem sido bastante empregado, visto evitar a oxidação dos explantes pela atuação das enzimas fenolases, é uma poliamida utilizada em cromatografia de separação de ácidos aromáticos, aldeídos e fenóis pela sua função adsorvente. Os fenóis são adsorvidos pelo PVP por meio de ligações de hidrogênio, o que previne a oxidação e polimerização, além de adsorver os produtos da oxidação fenólica, ou seja, as quinonas. (Pasqual et al., 1997). Augusto & Biasi (2002) controlaram a oxidação de amoreira-preta (*Rubus* sp.) com a adição de 1 g.L^{-1} PVP solúvel no meio sólido. De acordo com Cordeiro et al. (2002), o antioxidante PVP foi altamente eficiente no controle da oxidação em sementes de paricá. Segundo Figueiredo et al. (2001) na micropropagação de biribá (*Rollinia mucosa* Jacq Baill) a utilização de 0,5 g L^{-1} de PVP foi eficiente no controle da oxidação. Já para o estabelecimento de embriões de guarirobeira (*Syagrus oleracea* (MART.) BECC.) o PVP a 0,4 g L^{-1} não foi eficiente (Melo et al., 2001).

O estabelecimento das culturas *in vitro* podem apresentar melhores resultados quanto à intensidade de oxidação caso os explantes sejam cultivados no escuro ou em baixa intensidade luminosa durante as primeiras semanas de cultivo, mesmo após este período, o cultivo em condições de luminosidade intermediária contribui para prevenir a oxidação e melhorar o crescimento do explante. (Durand-Cresswell et al., 1982).

2.9 Desinfestação

A grande limitação da micropropagação da bananeira é a alta incidência de contaminação fúngica e/ou bacteriana, proveniente do explante ou do meio ambiente. A contaminação por bactérias é considerada a mais importante (Leifert et al., 1991; Hamill et al., 1993). Grattapaglia & Machado (1998) recomendam o uso de fungicidas e antibióticos tanto para a desinfestação dos explantes quanto, adicionados ao meio de cultura, para o controle da contaminação por fungos e bactérias endógenos da bananeira.

Para Pollock et al. (1983), o fungicida tem de apresentar amplo espectro de ação, e baixa toxicidade para as culturas (em concentrações necessárias para controlar os fungos); enquanto que os antibióticos são usados para o controle de contaminações bacterianas endógenas, que representam sério problema no estabelecimento das culturas. Os explantes, depois de reduzidos os contaminantes superficiais, podem ser transferidos para meio nutritivo contendo antibiótico (Grattapaglia & Machado 1998). Os antibióticos mais usados em cultura de tecidos vegetais possuem ação bacteriostática e não bactericida.

A contaminação fúngica pode ser eliminada através do benomyl (Haldeman et al. 1987), e o controle de bactérias endógenas pode ser efetivado através da adição no meio de cultivo de sulfato de estreptomicina, ampicilina, carbecilina, rifampicina da trimetropina, polimixina ou cefotaxima, em diferentes concentrações (Torres et al., 1998).

Ainda, para minimizar a contaminação microbiana, inúmeros protocolos de esterilização são apresentados por diversos autores. Estes relatam o uso de substâncias como hipoclorito de sódio, etanol 70% e, em alguns casos, a adição de antibióticos ao meio de cultura (Garcia & Rafael, 1990; Leifert et al., 1991; Buckley et al., 1995; Tahpresert & Reed, 1998).

A desinfestação de explantes é iniciada com o uso de substâncias que possuem ação germicida, dentre as quais, compostos à base de cloro, como: o hipoclorito de sódio ou hipoclorito de cálcio. O hipoclorito de sódio por ser um alvejante comercial e de fácil acesso é o mais utilizado em laboratórios de cultura de tecidos (Gratapaglia & Machado, 1998).

O processo de desinfestação superficial é realizado mediante a imersão do explante em álcool comercial a 70% por 5 minutos, seguida de imersão em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) comercial (2,5 % de cloro ativo) e água deionizada autoclavada, acrescido de Tween 20 (duas gotas por litro), durante 3 minutos, e lavagem em água esterilizada por três a cinco vezes (Castro et al., 2009).

2.10 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, 1987; 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 (Daniells et al., 2001), sendo, portanto, indesejáveis agronomicamente.

Segundo Castro et al. (2009) existem diferentes fatores que podem causar variação somaclonal em bananeira, tais como: composição do meio de cultura, taxa de multiplicação, origem do explante primário, número de subcultivos e determinados genótipos. 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.

A identificação dos variantes somaclonais mediante o uso de diferentes técnicas (Israeli et al., 1991; Smith & Hamill, 1993; Damasco et al., 1996; Bairu et al., 2006; 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.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O Trabalho foi conduzido no laboratório de Biotecnologia e Recursos Genéticos da EMBRAPA Amazônia Oriental, Belém, Pará. As cultivares de *Musa* spp estudadas foram: Bucaneiro (AAAA), Caipira (AAA), BRS Caprichosa (AAAB), Fhia 18 (AAAB), BRS Garantida (AAAB), Japira (AAAB), Pacovan Ken (AAAB), PA 4244 (AAAB), Preciosa (AAAB), PV 03-76 (AAAB), Thap Maeo (AAB) e Tropical (AAAB). O trabalho constou das seguintes etapas: estabelecimento de explantes (ápices caulinares) e controle de oxidação, proliferação e multiplicação e enraizamento dos brotos (Figura 3).

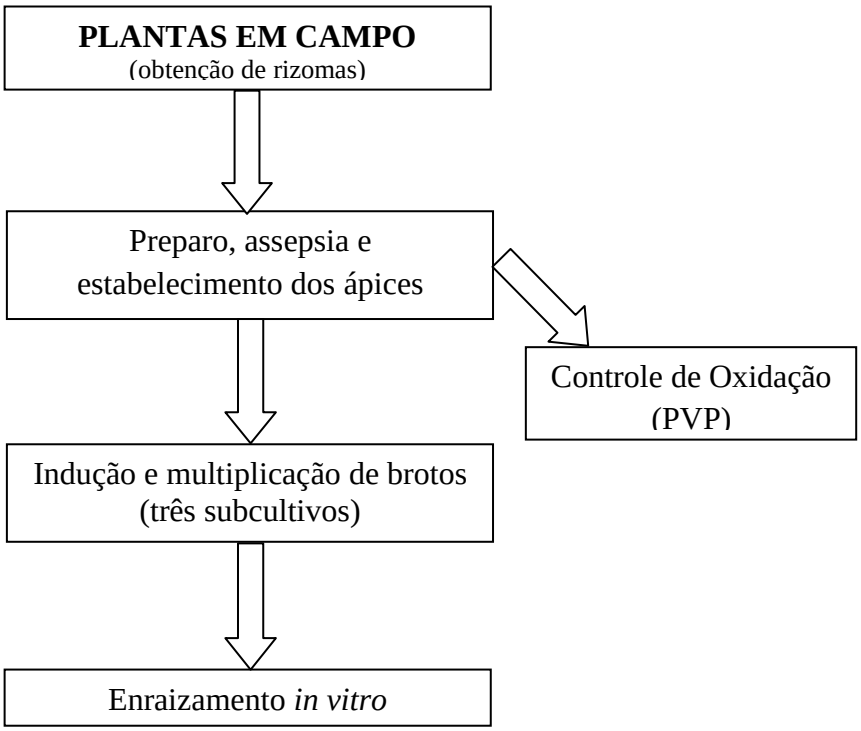


Figura 3. Etapas desenvolvidas no trabalho para multiplicação de plantas *in vitro* de cultivares de bananeira (grupos AAA, AAB, AAAA e AAAB).

3.1 – Preparo, assepsia e estabelecimento dos ápices caulinares em cultura.

Esta etapa caracterizou-se pela obtenção dos rizomas diretamente do campo, preparo, assepsia, excisão e inoculação/estabelecimento dos ápices caulinares em meio de cultura, sendo realizados três experimentos.

Experimento 1:

Obtenção e preparo dos rizomas

Rizomas de bananeira das cultivares: Bucaneiro, Caipira, Fhia 18, BRS Garantida, Japira, PA 4244, Preciosa, PV 03-76, Thap Maeo e Tropical foram retirados de matrizes do município de Baião-PA, no mês de março (época chuvosa), e enviados para o Laboratório de Biotecnologia e Recursos Genéticos da Embrapa Amazônia Oriental. Foi realizada pré-limpeza dos rizomas com lavagem em água corrente e imersão na solução de fungicida Opera a 0,2% por 20 minutos no local da coleta. No laboratório, esse material ficou em condições de sala de cultivo, sob fotoperíodo de 16 h luz.dia^{-1}, com intensidade de luz de 25 µmol. s^{-1}.cm^{-2} e temperatura de 25 ± 3º C. Após uma semana os rizomas foram reduzidos para cerca de 6 a 8 cm e submetidos a lavagem em água corrente de torneira.

Assepsia e excisão dos ápices caulinares

A assepsia dos rizomas, previamente preparados, foi realizada em câmara de fluxo laminar. Os explantes foram primeiramente incubados com álcool etílico 96°GL por 1 minuto, seguido de imersão em hipoclorito de sódio (NaClO) a 2,5% por 15 minutos e posteriormente submetidos a cinco lavagens em água destilada autoclavada. Com o auxílio de instrumentos assépticos (pinças, bisturis, etc.), foram retiradas as bainhas de folhas até obtenção de ápices caulinares com cerca de 1,5 a 2,0 cm, antes de serem mergulhados em solução de ácido cítrico na concentração de 50 mM previamente à introdução em meio de cultivo.

Estabelecimento dos ápices caulinares em cultura

Os ápices caulinares desinfestados, foram inoculados, inicialmente, em tubos de vidro com 20 mL de meio de cultivo MS (Murashigue & Skoog, 1962) completo suplementado com 2,5 mg.L^{-1} de BAP, 40 mg.L^{-1} de Cisteína, Carvão ativado a 2 %, 100 mg.L^{-1} de Sulfato de Estreptomicina e solidificado com Phytagel a 0,2%, os tubos foram vedados com papel

alumínio e filme de PVC resinite. O Valor do pH do meio de cultura foi ajustado para 6,1 antes da autoclavagem por 20 minutos, a 120°C e sob pressão de 1,5 atm. O experimento foi estabelecido em sala de cultivo, sob fotoperíodo de 16 h luz.dia^{-1}, com intensidade de luz de 25 µmol. s^{-1}.cm^{-2} e temperatura de 25 ± 3º C. Em virtude da aquisição de número de rizomas diferentes por cultivar, os tratamentos foram constituídos com diferentes números de repetições variando de 8 à 32, e o delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado. A avaliação do experimento foi realizada diariamente quanto à percentagem de contaminação por fungos, bactérias e oxidação dos explantes.

Experimento 2:

Obtenção e preparo dos rizomas

Rizomas de bananeira das cultivares Caipira, BRS Caprichosa, Pacovan Ken, Preciosa, PV 03-76 e Thap Maeo foram retirados de matrizes da Unidade de Observação instalada no campo experimental na Embrapa Amazônia Oriental, em Belém-PA, no mês de junho (época chuvosa), e enviados para o Laboratório de Biotecnologia e Recursos Genéticos. Foi feita uma pré-limpeza dos rizomas com lavagem em água corrente e imersão na solução de fungicida Opera a 0,2% por 20 minutos. Após a pré-limpeza, os rizomas foram colocados em estufa a temperatura de 38°C por uma semana. Em seguida, os rizomas foram reduzidos para cerca de 6 a 8 cm e incubados com fungicida Opera 0,2% por 20 minutos, seguido de incubação com o mesmo fungicida a 0,1% por mais 7 minutos.

Assepsia e excisão dos ápices caulinares

A assepsia dos rizomas previamente preparados, foi realizada em câmara de fluxo laminar asséptica, primeiramente com álcool etílico 70% por 1 minuto, seguido de imersão em hipoclorito de sódio (NaClO) a 2,5% e 2 gotas de Tween 20 durante 15 minutos, e posteriormente submetidos por cinco lavagens em água destilada autoclavada. Com o auxílio de instrumentos assépticos (pinças, bisturis, etc.), foram retiradas as bainhas de folhas até obtenção de ápices caulinares com cerca de 1,5 a 2,0 cm e mergulhados em solução de ácido cítrico na concentração de 50 mM antes de serem inoculados em meio de cultivo.

Estabelecimento dos ápices caulinares em cultura

Em virtude do experimento 1 ter ocorrido perda por oxidação e contaminação de 100% dos explantes, adicionou-se aos meios de cultura de estabelecimento e de indução de brotos do experimento 2, 100 $mg.L^{-1}$ de sulfato de estreptomicina para um maior controle de contaminação por bactérias, e 0,4% de PVP para o controle da oxidação dos explantes aos meios de cultura.

Os explantes foram inoculados em tubos de vidro com 20 mL de meio de estabelecimento (MS + BAP a 2,5 $mg.L^{-1}$ + PVP a 0,4%, solidificado com Phytagel a 0,2% + Sulfato de Estreptomicina a 100 $mg.L^{-1}$), tampados com papel alumínio e vedados com filme de PVC resinite, e cultivados por uma semana. Após esse período, os explantes sofreram corte para eliminar os tecidos escurecidos e controlar a oxidação em virtude da liberação de polifenóis que interferem no desenvolvimento. Alguns explantes que apresentavam sintomas aparente de contaminação foram submetidos à solução de sulfato de estreptomicina a 100 $mg.L^{-1}$ por 3 minutos antes de serem transferidos para frascos de vidro com 40 mL de meio de indução de brotos (MS + BAP a 4,5 $mg.L^{-1}$, + PVP a 0,4%, solidificado com Phytagel a 0,2% + Sulfato de Estreptomicina a 100 $mg.L^{-1}$), tampados com tampas plásticas e vedados com filme de PVC resinite. Após cinco semanas de cultivo, em meio de indução de brotos, os ápices caulinares sofreram corte central, ou seja, foram seccionados longitudinalmente em duas partes, para quebrar a dominância apical, e introduzidos no meio de cultivo de Corte longitudinal do explante (MS + BAP a 4,5 $mg.L^{-1}$ + PVP a 0,4%, solidificado com Phytagel a 0,2%.), em condições assépticas, em câmara de fluxo laminar (Figura 4). Ressalte-se que a fase de estabelecimento até a indução de brotos ocorreu em 10 semanas.

O Valor do pH de todos os meios de cultura foi ajustado para 6,1 antes da autoclavagem por 20 minutos, a 120°C e sob pressão de 1,5 atm. O experimento foi estabelecido em sala de cultivo, sob condições laboratoriais sob fotoperíodo de 16 h $luz.dia^{-1}$, com intensidade de luz de 25 $\mu mol.\ s^{-1}.cm^{-2}$ e temperatura de 25 ± 3ºC. Os tratamentos foram constituídos com diferentes números de repetições variando de 9 à 35, e o delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado. A avaliação do experimento foi realizada quanto à percentagem de perda de explantes por cultivar.

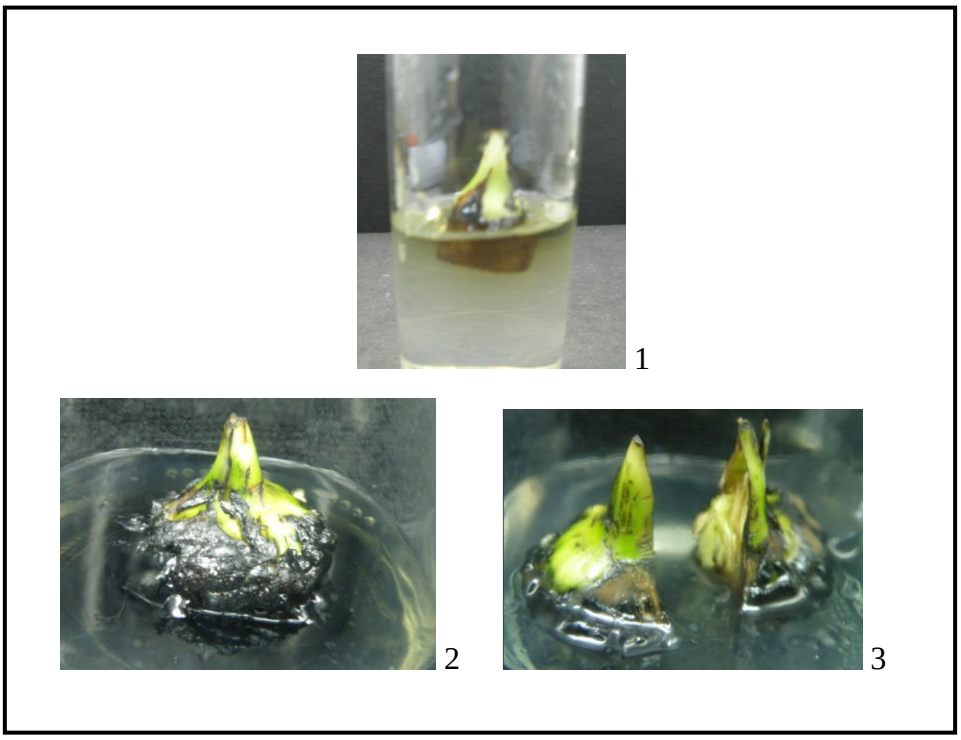


Figura 4. Fases do cultivo dos meristemas: 1. Em meio de estabelecimento; 2. Em Meio de indução de brotos; 3. Corte central longitudinal do ápice caulinar.

Experimento 3:

Obtenção e preparo dos rizomas

Rizomas de bananeira das cultivares: Bucaneira, Caipira, Fhia 18, BRS Garantida, Japira, PA 4244, Pacovan Ken, PV 03-76, Preciosa, Thap Maeo e Tropical foram retirados de matrizes do município de Baião-PA no mês de julho (época menos chuvosa) e enviados para o Laboratório. Antes do envio, houve pré-limpeza dos rizomas com lavagem em água corrente e imersão na solução de fungicida Opera a 0,2% por 20 minutos no local da coleta. No laboratório, esse material ficou em condições de sala de cultivo, sob fotoperíodo de 16 h luz.dia^{-1}, com intensidade de luz de 25 µmol.s^{-1}.cm^{-2} e temperatura de 25 ± 3ºC. Após uma semana, ocorreu a redução dos rizomas para cerca de 6 a 8 cm, sendo estes submetidos a solução de fungicida Opera a 0,2% por 20 minutos.

Assepsia e excisão dos ápices caulinares

A assepsia dos rizomas previamente preparados, realizou-se em câmara de fluxo laminar asséptica, primeiramente com álcool etílico 70% por 1 minuto, seguido de imersão em hipoclorito de sódio (NaClO) a 2,5% e 2 gotas de Tween 20 por 15 minutos e posteriormente submetidos por cinco lavagens em água destilada autoclavada. Com o auxílio de instrumentos assépticos (pinças, bisturis, etc.), foram retiradas as bainhas de folhas até obtenção de ápices caulinares com cerca de 1,5 a 2,0 cm e mergulhados em solução de ácido cítrico na concentração de 50 mM antes de serem inoculados em meio de cultivo.

Estabelecimento dos ápices caulinares em meio de cultura

O experimento 3 foi montado após resultados e observações dos experimentos anteriores. Os explantes, ápices caulinares, foram inoculados em tubos de vidro com 20 mL de meio de estabelecimento (MS + BAP a 2,5 $mg.L^{-1}$ + PVP a 0,4%, solidificado com Phytagel a 0,2% + Sulfato de Estreptomicina a 100 $mg.L^{-1}$), tampados com papel alumínio e vedados com filme de PVC resinite, e cultivados por duas semanas, sendo a primeira semana, no escuro para auxiliar no controle da oxidação. Após duas semanas esses explantes intumecidos (aumento de volume) foram transferidos para frascos com 40 mL de meio de indução de brotos 1 (MS + BAP a 4,5 $mg.L^{-1}$ + PVP a 0,4%, solidificado com Phytagel 0,2% + Sulfato de Estreptomicina 100 $mg.L^{-1}$), tampados com tampas plásticas e vedados com filme de PVC resinite, sendo eliminado, com o auxílio de pinça, os tecidos escurecidos dos explantes, para controlar a oxidação. Decorridos duas semanas esses explantes intumecidos foram transferidos para frascos de vidro com 40 mL de meio de indução de brotos 2 (MS + BAP a 4,5 $mg.L^{-1}$ + PVP a 0,4 % e solidificado com Phytagel a 0,2%), tampados com tampas plásticas e vedados com filme de PVC resinite, sendo também eliminado com o auxílio de pinça os tecidos escurecidos dos explantes, para controlar a oxidação. Após quatro semanas de cultivo, em meio de indução de brotos 2, esses ápices caulinares sofreram corte central, e foram introduzidos em meio de cultivo de 1° Corte (MS + BAP a 4,5 $mg.L^{-1}$ + PVP a 0,4% e solidificado com Phytagel a 0,2%). Ressalte-se que a fase de estabelecimento até a indução de brotos ocorreu em 12 semanas.

O Valor do pH de todos os meios de cultura foi ajustado para 6,1 antes da autoclavagem por 20 minutos, a 120°C e sob pressão de 1,5 atm. O experimento foi conduzido em sala de cultivo, sob fotoperíodo de 16 h $luz.dia^{-1}$, com intensidade de luz de 25

$\mu mol.s^{-1}.cm^{-2}$ e temperatura de 25 ± 3ºC. Os tratamentos foram constituídos com diferentes números de repetições variando de 10 a 44, e o delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado.

A avaliação quanto ao grau de oxidação dos explantes, foi realizada após duas semanas em meio de estabelecimento, adotando-se os seguintes critérios (Figura 5):

a) O° : atribuída aos explantes sem oxidação;
b) O^{+} : atribuída aos explantes com alguns pontos de oxidação;
c) O^{++} : atribuída aos explantes medianamente oxidados;
d) O^{+++}: atribuída aos explantes totalmente oxidados.

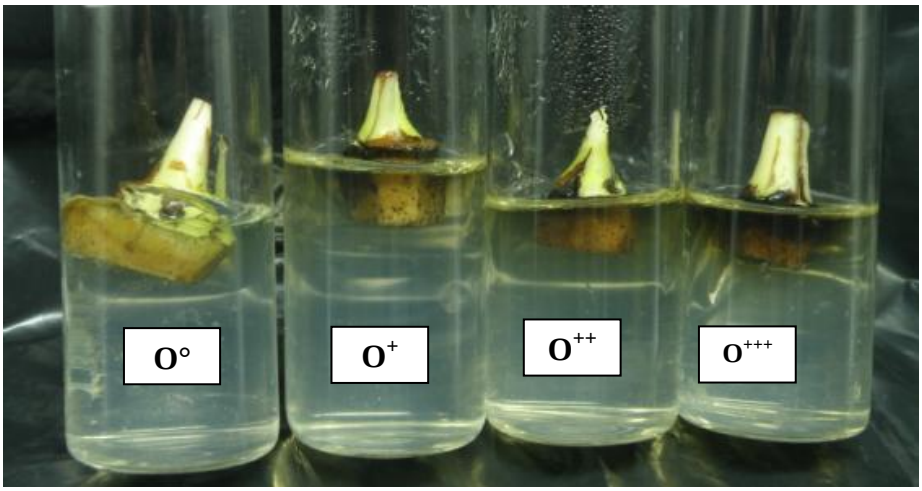


Figura 5. Grau de oxidação dos explantes.

Além da avaliação de grau de oxidação, na fase de estabelecimento dos explantes avaliou-se a percentagem de perda de explantes por cultivar.

3.2. Controle de Oxidação com PVP

Para o controle de oxidação de explantes de bananeira, foi realizado um experimento prévio, para determinar a concentração mais adequada de PVP no meio de cultura, e com base nos resultados do mesmo foi determinada uma concentração fixa do antioxidante que foi utilizada nos experimentos já descritos anteriormente.

Rizomas de bananeira da cultivar PV 03-76 foram retirados de matrizes da Unidade de Observação instalada no campo experimental na Embrapa Amazônia Oriental, em Belém-PA, e enviados para o Laboratório de Biotecnologia e Recursos Genéticos da mesma instituição. Foi realizada uma pré-limpeza dos rizomas com lavagem em água corrente e imersão na solução de fungicida Derozal a 0,2% por 20 minutos. Após a pré-limpeza, os rizomas foram reduzidos para cerca de 10 a 15 cm, e sob câmara de fluxo laminar foram submetidos à assepsia por meio da imersão em álcool 70% por 1 minuto, seguido da incubação em hipoclorito de sódio (NaClO) a 2,5% por 15 minutos e cinco lavagens em água destilada autoclavada.

Posteriormente, os ápices caulinares com cerca de 1,5 a 2,0 cm foram inoculados em frascos de vidro contendo meio MS com diferentes concentrações de PVP a 2 $g.L^{-1}$ (T1), 3 $g.L^{-1}$ (T2) e 4 $g.L^{-1}$ (T3), suplementado com BAP a 2,5 $mg.L^{-1}$, solidificado com Phytagel a 0,2%, tampados com tampas plásticas e vedados com filme de PVC resinite. O pH foi ajustado para 6,1 previamente à autoclavagem a 121 ^{o}C e sob pressão de 1,5 atm por 20 minutos. Sendo o tratamento T1 a testemunha. Durante a fase de estabelecimento os explantes foram transferidos para novos meios de cultura com a mesma constituição, ou seja, ápices caulinares que estavam no meio com tratamento T1 foram transferidos para o mesmo meio de cultivo (T1), e assim respectivamente, proveniente de T2 para T2, proveniente de T3 para T3, a cada 24, 48, 72 horas, respectivamente e posteriormente com uma semana. Os ápices caulinares foram mantidos por 16 dias em sala de cultivo, sob fotoperíodo de 16 h $luz.dia^{-1}$, com intensidade de luz de 25 $\mu mol.s^{-1}.cm^{-2}$ e temperatura de 25 ± 3ºC. Os tratamentos foram constituídos com diferentes números de repetições variando de 5 a 10, e o delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado. A avaliação foi quanto ao percentual de ápices caulinares apresentando escurecimento dos tecidos em virtude do fenômeno da oxidação.

3.3. Multiplicação de Brotos

Após a obtenção dos rizomas diretamente do campo (dos municípios de Baião e Belém do Estado do Pará), preparo, assepsia, excisão e inoculação/estabelecimento dos ápices caulinares em meio de cultura, ocorreu a indução e multiplicação de brotos de bananeira (Figura 6).

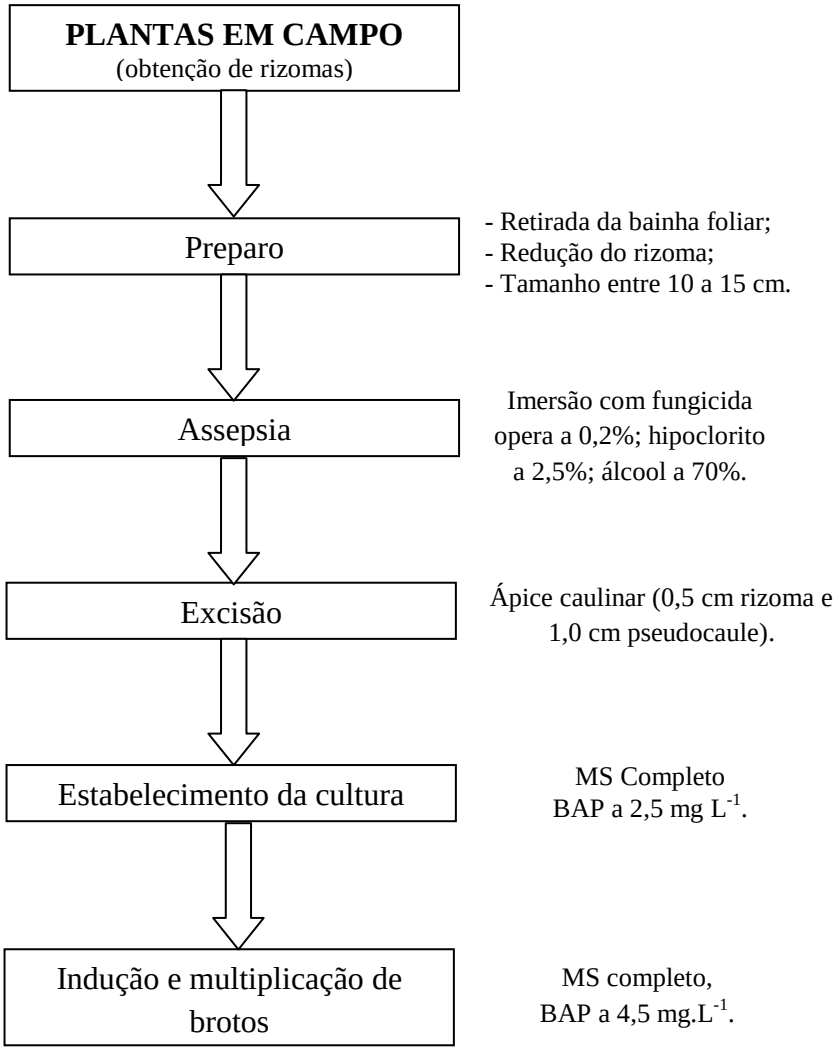


Figura 6. Metodologia para introdução e proliferação de brotos de bananeira.

A multiplicação de brotos ocorreu nos explantes provenientes do preparo, assepsia, excisão e estabelecimento dos ápices caulinares em meio de cultura do experimento 2 e 3.

Os brotos usados no experimento 2 são provenientes de rizomas de bananeira das cultivares: Caipira (AAA), BRS Caprichosa (AAAB), Preciosa (AAAB), PV 03-76 (AAAB) e Thap Maeo (AAB) que foram retirados de matrizes da Unidade de Observação instalada no campo experimental na Embrapa Amazônia Oriental, em Belém-PA, no mês de junho (época chuvosa).

Os brotos usados no experimento 3 são provenientes de rizomas de bananeira das cultivares: Bucaneira (AAAA), Caipira (AAA), Fhia 18 (AAAB), BRS Garantida (AAAB), Japira (AAAB), PA 4244 (AAAB), Pacovan Ken (AAAB), PV 03-76 (AAAB), Preciosa (AAAB), Thap Maeo (AAB) e Tropical (AAAB) que foram retirados de matrizes do município de Baião-PA no mês de julho (época menos chuvosa).

Após a realização dos cortes longitudinais e do cultivo dos explantes por 6 semanas, ocorreu a indução de brotações, sendo estas individualizadas, após limpeza do material (retirando tecidos externos oxidados e parte aérea) e transferidas para frascos com 40 mL de meio de multiplicação de brotos contendo MS + BAP a 4,5 $mg.L^{-1}$ + PVP a 0,4% e solidificado com Phytagel a 0,2%, tampados com tampa plástica e vedados com filme de PVC resinite. O pH foi ajustado para 6,1 previamente à autoclavagem a 121°C e sob pressão de 1,5 atm por 20 minutos. O experimento foi subcultivado por três vezes a cada quatro semanas para multiplicação dos brotos.

O experimento foi conduzido em sala de cultivo, sob fotoperíodo de 16 h $luz.dia^{-1}$, com intensidade de luz de 25 $\mu mol.s^{-1}.cm^{-2}$ e temperatura de 25 ± 3 ºC, foram inoculados até 5 explantes por frasco, constituído de 4 repetições para cada cultivar provenientes do experimento 2 e 3, citadas anteriormente. O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado.

A avaliação feita a cada subcultivo foi quanto ao número de brotos por rizoma após o 1º, 2º e 3º subcultivos e número de brotos por explante após o 2º e 3º subcultivos para cada cultivar nos experimentos 2 e 3. Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2009) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.4 Enraizamento

Foi realizado o experimento de enraizamento com brotos das culivares Pacovan ken e PV 03-76, materiais provenientes do Laboratório de Biotecnologia e Recursos Genéticos da Embrapa Amazônia Oriental, após o 5º subcultivo de multiplicação *in vitro.* Esses brotos foram inoculados em frascos de vidro de 300 mL com 40 mL de meio básico de cultura, com diferentes concentrações de sais MS e de auxina AIB (ácido indolbutírico), tampados com tampa plástica e vedados com filme de PVC resinite. O pH foi ajustado para 6,1 previamente à autoclavagem a 121°C e sob pressão de 1,5 atm por 20 minutos.

O experimento foi constituído de 4 tratamentos, quais sejam:

T1 - meio MS;

T2 - meio ½ MS (com a metade da concentração dos sais de MS);

T3 - meio MS e 1µM de AIB;

T4 – meio ½ MS (com a metade da concentração dos sais de MS) e 1µM de AIB.

Os tratamentos foram constituídos com 5 repetições, sendo inoculados 3 brotos por frasco. O experimento foi conduzido em sala de crescimento sob fotoperíodo de 16 h luz.dia^{-1}, com intensidade de luz de 25 µmol.s^{-1}.cm^{-2} e temperatura de 25 ± 3ºC. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado.

Após um período de 4 semanas, os explantes foram avaliados quanto ao percentual de indução de raízes, número e comprimento de raiz (Figura 7). Os dados foram submetidos a análise de variância, utilizando o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2009), e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, visando identificar o meio de cultura mais eficiente no processo de formação de brotos enraizados, em condições de serem aclimatizados e formarem mudas sadias e vigorosas.

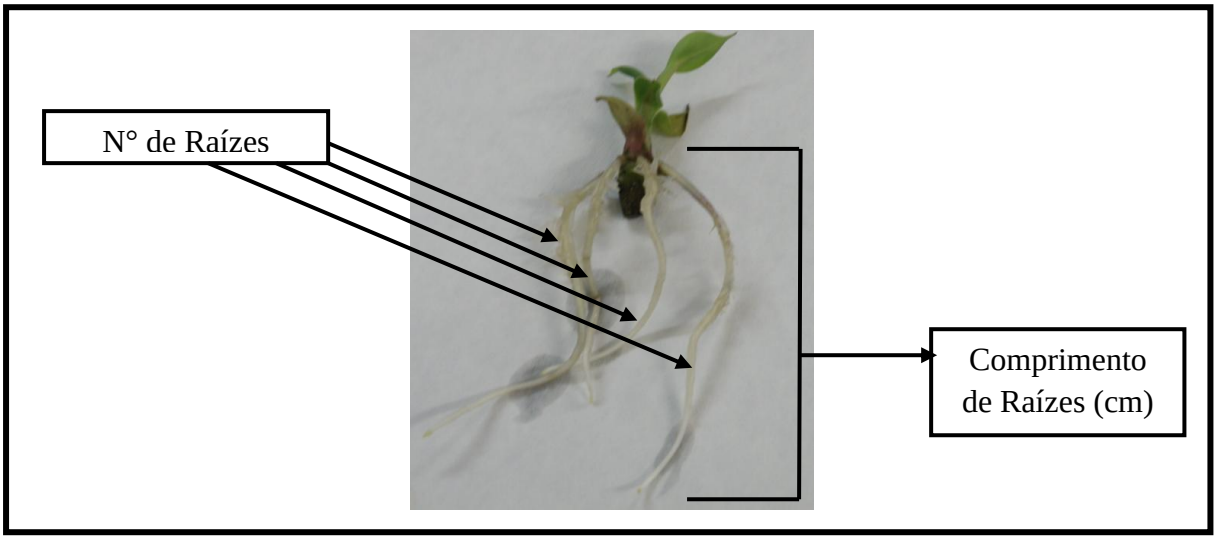


Figura 7. Broto da cultivar Pacovan Ken enraizado, mostrando número e comprimento das raízes em relação a parte aérea da planta após o cultivo por quatro semanas em meio de enraizamento.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Estabelecimento dos ápices caulinares.

Experimento 1: Após duas semanas de cultivo em meio de estabelecimento houve a contaminação de 100 % dos ápices caulinares aparentemente por bactérias, não sendo eficiente o processo de assepsia e/ou constituição do meio de cultivo.

Experimento 2: Após 14 dias de cultivo, foi avaliado o percentual de perda dos explantes inoculados nas diferentes fases do estabelecimento da cultura, sendo observado, inicialmente contaminação com características morfológicas de bactérias nos primeiros dias do estabelecimento dos explantes, seguida de perda por oxidação. A perda por contaminação e/ou oxidação alcançou 66,67%, 51,85%, 50,00%, 37,50% e 9,09%, nas cultivares Pacovan Ken, PV 03-76, BRS Caprichosa, Thap Maeo e Caipira respectivamente, após cultivo em meio de estabelecimento (Figura 8). Entretanto, após transferência para meio de indução de brotos, todas as cultivares continuaram manifestando perda por contaminação e/ou oxidação, sendo 100,00% para a cultivar Pacovan Ken, 50,00% para a Caipira, 40,00% para as cultivares BRS Caprichosa e Thap Maeo, 37,50% para a cultivar Preciosa e 15,38% para a cultivar PV 03-76 respectivamente. Após o corte longitudinal do explante foi observado uma perda de 20% apenas na cultivar Preciosa e essa perda se deve provavelmente a contaminação com características morfológicas de fungos, que é devido a problemas na manipulaçao visto que a contaminação ocorre com maior frequência nas fases iniciais do estabeleimento da cultura, sendo em maior percentual aparentemente por bactérias (Figura 9).

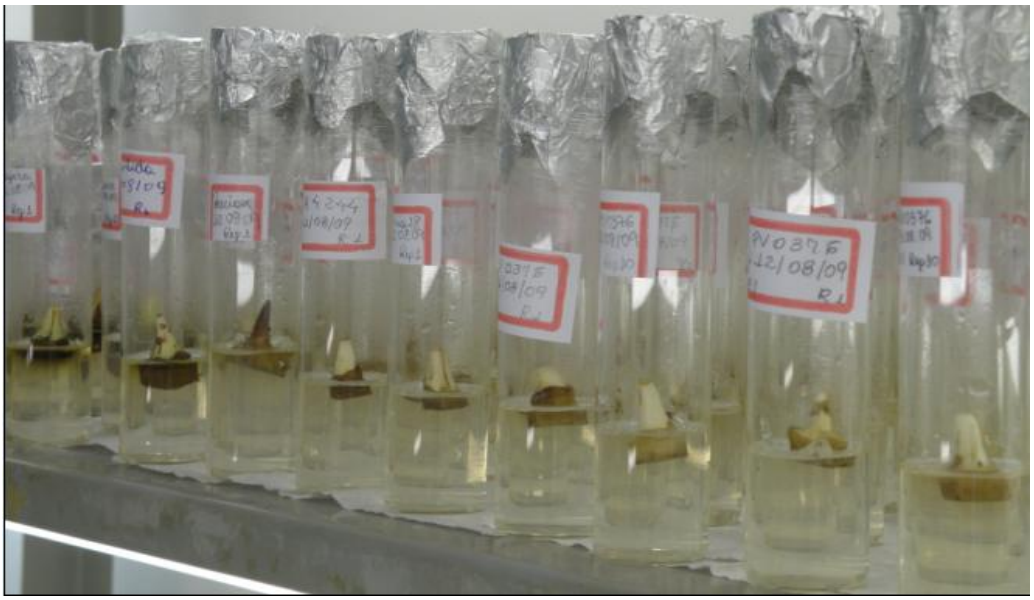
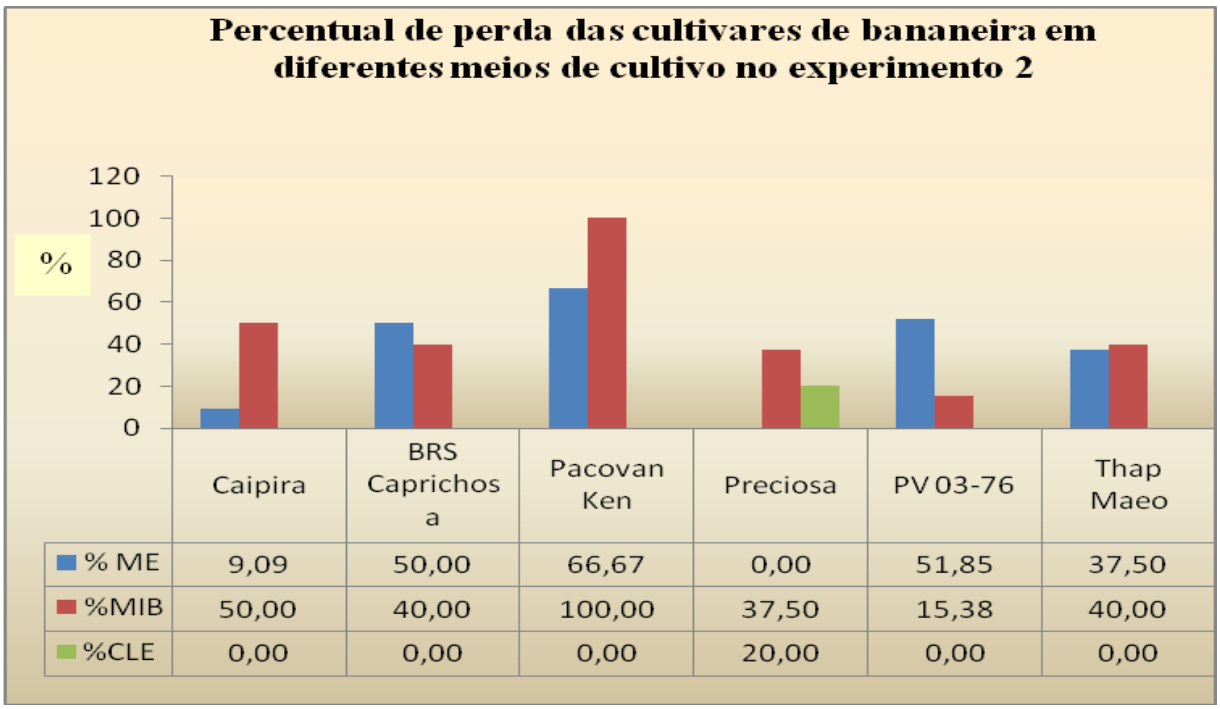


Figura 8. Ápices Caulinares em meio de estabelecimento.



	Caipira	BRS Caprichosa	Pacovan Ken	Preciosa	PV 03-76	Thap Maeo
% ME	9,09	50,00	66,67	0,00	51,85	37,50
%MIB	50,00	40,00	100,00	37,50	15,38	40,00
%CLE	0,00	0,00	0,00	20,00	0,00	0,00

Figura 9. Percentual de perda por contaminação e/ou oxidação das cultivares de bananeira após duas semanas de cultivo em diferentes fases do processo de estabelecimento da cultura. ME (meio de estabelecimento), MIB (em meio de indução de brotos) e CLE (meio usado após corte longitudinal do explante).

Segundo Lima & Moraes (2006) as taxas de contaminação mais elevadas são de origem bacteriana. A fase mais suscetível desse tipo de contaminação é no estabelecimento da bananeira *in vitro*, com tendência de redução à medida que vão sendo realizados os subcultivos. Os níveis de contaminações atingidos podem inviabilizar a produção comercial de mudas, num ambiente mais competitivo, sendo este o principal fator que onera o rendimento da cultura. (Braga et al., 2001).

Experimento 3: De todos os explantes das cultivares testadas e introduzidos *in vitro* após duas semanas de cultivo, foi observado que 69,72% apresentaram-se totalmente oxidados (0^{+++}), 14,68% mostraram-se medianamente oxidados (0^{++}), 11,01% apresentaram alguns pontos de oxidação (0^{+}) e 4,59% dos explantes não oxidaram (0^{0}) (Figura 10).

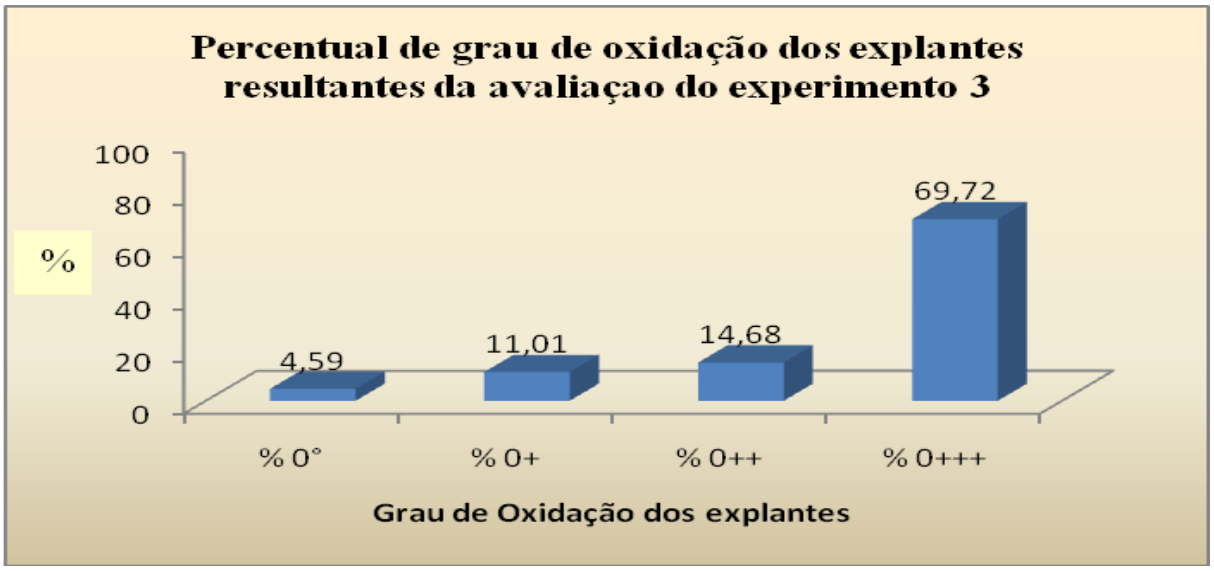
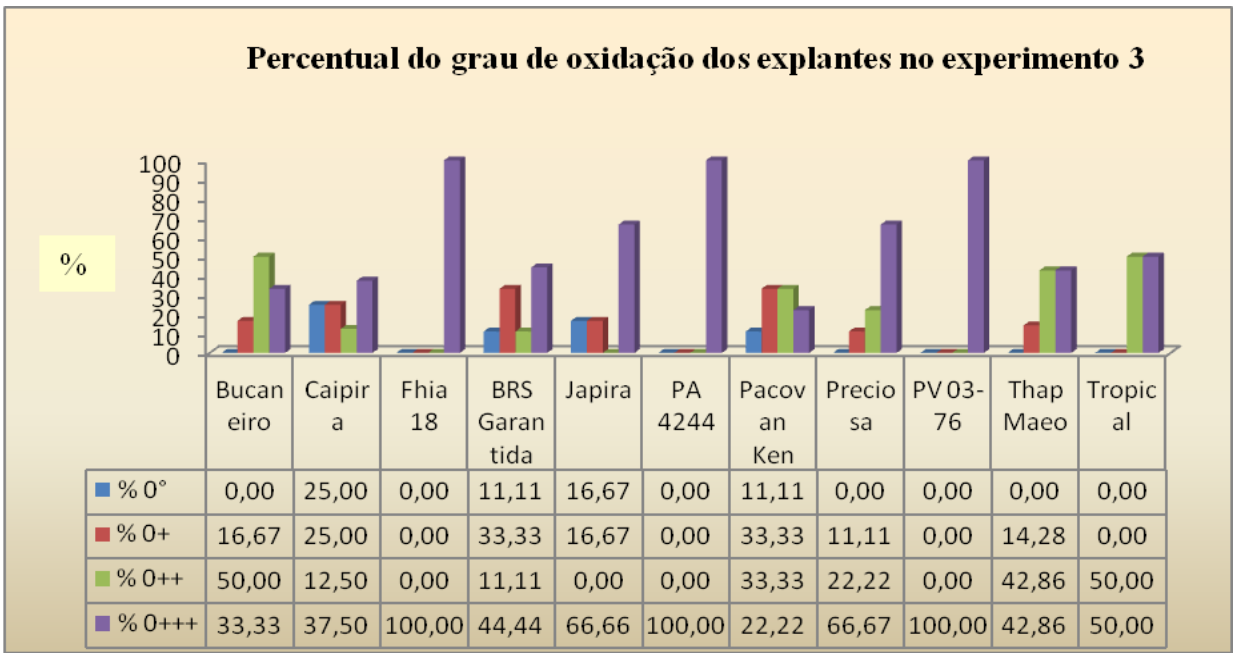


Figura 10. Percentual de diferentes graus de oxidação dos explantes com duas semanas de cultivo após a inoculação em meio de estabelecimento contendo o antioxidante PVP na concentração de $4g.L^{-1}$.

Para o critério de oxidação O^{+++}: atribuído aos explantes totalmente oxidados, foi observado que as cultivares Fhia 18, PA 4244 e PV 03-76 apresentaram 100% dos explantes oxidados. As cultivares Preciosa, Japira, Tropical, BRS Garantida, Thap Maeo, Caipira e Bucaneiro apresentaram percentuais de 66,67%; 66,66%; 50%; 44,44%; 42,86%; 37,50% e 33,33% respectivamente. Para o critério O^{++}: atribuído aos explantes medianamente oxidados foi observado que as cultivares Tropical e Bucaneiro apresentaram 50% dos seus explantes

nessas condições. Já as cultivares Thap Maeo, Pacovan Ken, Preciosa, Caipira e BRS Garantida apresentaram 42,86%; 33,33%; 22,22 %; 12,50% e 11,11%, dos seus explantes nessas condições respectivamente. Para o critério O^+: atribuído aos explantes com alguns pontos de oxidação foi encontrado 33,33% dos explantes das cultivares BRS Garantida e Pacovan Ken, 25% para a Caipira, 16,67% para as cultivares Bucaneiro e Japira, 14,28% para a Thap Maeo e 11,11% para a Preciosa. Para o critério O^0: atribuído aos explantes sem oxidação encontramos 25% da cultivar Caipira, 16,67% da Japira e 11,11% nas cultivares BRS Garantida e Pacovan Ken (Figura 11).

Registros na literatura relatam diferenças entre as cultivares de bananeira em relação à intensidade de oxidação, o que pode ser atribuído às características intrínsecas do grupo genômico AAB (Souza et al., 1999).



	Bucaneiro	Caipira	Fhia 18	BRS Garantida	Japira	PA 4244	Pacovan Ken	Preciosa	PV 03-76	Thap Maeo	Tropical
% 0°	0,00	25,00	0,00	11,11	16,67	0,00	11,11	0,00	0,00	0,00	0,00
% 0+	16,67	25,00	0,00	33,33	16,67	0,00	33,33	11,11	0,00	14,28	0,00
% 0++	50,00	12,50	0,00	11,11	0,00	0,00	33,33	22,22	0,00	42,86	50,00
% 0+++	33,33	37,50	100,00	44,44	66,66	100,00	22,22	66,67	100,00	42,86	50,00

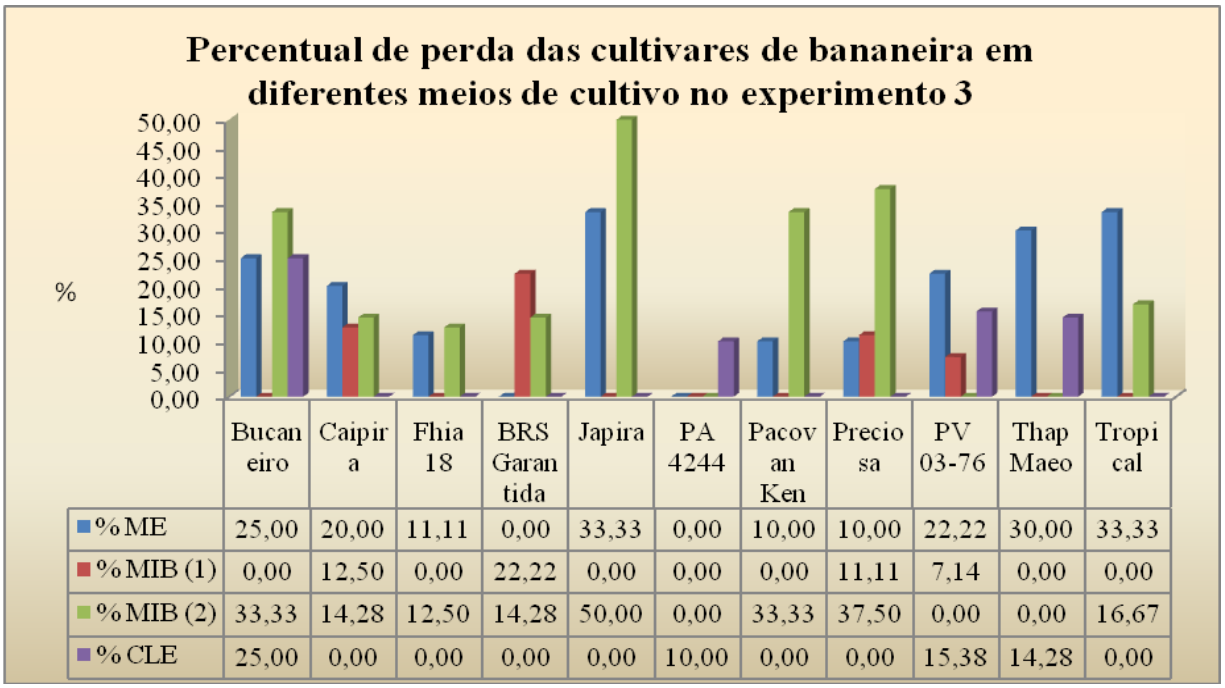
Figura 11. Percentual do grau de oxidação dos explantes cultivados por duas semanas em meio de estabelecimento contendo o antioxidante PVP na concentração de $4g.L^{-1}$.

Após 14 dias de cultivo em meio de estabelecimento e no mesmo período após a primeira transferência em meio de indução de brotos, foi avaliado o percentual de perda por contaminação e/ou oxidação dos explantes. Foi observado que a perda após o cultivo em meio de estabelecimento, alcançou 33,33% nas cultivares Japira e Tropical, 30,00%, 25,00%; 22,22%; 20,00%; 11,11% para as cultivares Thap Maeo, Bucaneiro, PV 03-76, Caipira e Fhia 18 respectivamente, e 10,00% para as cultivares Pacovan ken e Preciosa. Após o cultivo em

meio de indução de brotos (primeira transferência) ocorreu à perda de 22,22%; 12,50%; 11,11% e 7,14% nas cultivares BRS Garantida, Caipira, Preciosa e PV 03-76 (Figura 12).

Decorridos 28 dias após a segunda transferência em meio de indução de brotos e no mesmo período após o cultivo em meio após o corte longitudinal do explante, foi avaliado o percentual de perda por contaminação e/ou oxidação dos explantes. Após o cultivo em meio de indução de brotos (segunda transferência) ocorreu à perda de 50,00%; 37,50%; para as cultivares Japira e Preciosa, 33,33% para as cultivares Bucaneiro e Pacovan ken, 16,67% para a Tropical, 14,28% para as cultivares Caipira e Garantida e 12,50% para a cultivar Fhia 18. A perda após o cultivo em meio após o corte longitudinal do explante ocorreu em 25,00%; 15,38%; 14,28% e 10,00% para as cultivares Bucaneiro, PV 03-76, Thap Maeo e PA 4244 respectivamente (Figura 12).

Foi observado que houve contaminação com características morfológicas de bactérias e de fungos, somando-se a perda por oxidação nas fases do estabelecimento da cultura.



	Bucaneiro	Caipira	Fhia 18	BRS Garantida	Japira	PA 4244	Pacovan Ken	Preciosa	PV 03-76	Thap Maeo	Tropical
%ME	25,00	20,00	11,11	0,00	33,33	0,00	10,00	10,00	22,22	30,00	33,33
%MIB (1)	0,00	12,50	0,00	22,22	0,00	0,00	0,00	11,11	7,14	0,00	0,00
%MIB (2)	33,33	14,28	12,50	14,28	50,00	0,00	33,33	37,50	0,00	0,00	16,67
%CLE	25,00	0,00	0,00	0,00	0,00	10,00	0,00	0,00	15,38	14,28	0,00

Figura 12. Percentual de perda por contaminação e/ou oxidação das cultivares de bananeira após 14 dias de cultivo em ME (meio de estabelecimento) e MIB (1) (Meio de Indução de brotos, 1° Transferência). Após 28 dias em meio MIB (2) (Meio de Indução de brotos, 2° Transferência) e CLE (meio usado após corte longitudinal do explante).

Segundo Lopes (1988), as contaminações bacterianas são mais drásticas que as fungicas e trazem duas conseqüências básicas: a primeira é a perda de tempo e de recursos financeiros ou genéticos pela eliminação de frascos contaminados, e a segunda é o risco de contaminação de outras plantas.

Nos experimentos 2 e 3 foi observado que houve contaminação com maior freqüência aparentemente por bactérias e que ocorreram nas fases iniciais, ou seja, no estabelecimento da cultura e na indução de brotos. Apesar de diferir o procedimento no estabelecimento dos ápices caulinares em cultura, resultados semelhantes foram encontrados no trabalho de Nietsche et al.(2006) onde não foram detectadas interações significativas entre os métodos de assepsia e os cultivares avaliados em seu estudo, ao final da fase de estabilização, foi obtido um total de 37,5% de tubos contaminados para todas as cultivares avaliadas.

4.2 Controle de Oxidação com PVP

Durante o processo de estabelecimento de cultura dos ápices caulinares, foi observado que após uma semana de cultivo, ocorreu o escurecimento da base dos explantes. Para se evitar o acúmulo dos compostos fenólicos na base dos explantes foi realizado trocas para novos meios de cultura. Houve redução da oxidação à medida que se aumentou a concentração do PVP adicionado ao meio de cultivo, ou seja 40% dos explantes oxidaram, quando submetidos ao tratamento T3 (PVP a 4,0 $g.L^{-1}$), 60% oxidaram quando submetidos ao tratamento T2 (PVP a 3,0 $g.L^{-1}$), e 100% oxidaram no tratamento T1 (PVP a 2,0 $g.L^{-1}$) (Tabela 3 e figuras 13 e 14).

Foi observado que a medida que aumenta a concentração de PVP diminui a oxidação (Figura 13). Segundo Lacerda e Lemos (2008), trabalhando com bananeira, com uma concentração acima de 0,2% de PVP ocorreu uma significativa redução na taxa de oxidação.

A utilização de diversos antioxidantes é relatada na literatura, tanto para bananeira como para outras culturas, como alternativa para a diminuição do processo de oxidação. Grattapaglia & Machado (1998) recomendam a adição de antioxidantes ao meio de cultivo ou o uso de tais substâncias na etapa de pré-tratamento, visando a diminuição da oxidação.

Tabela 3: Percentual de oxidação de ápices caulinares de bananeira da cultivar PV 03-76 em tratamentos com diferentes concentrações de PVP.

Tratamento	Oxidação(%)
T1	100
T2	60
T3	40

Em tratamentos com diferentes concentrações de PVP: 2 g. L^{-1} (T1), 3 g. L^{-1} (T2) e 4 g. L^{-1} (T3).

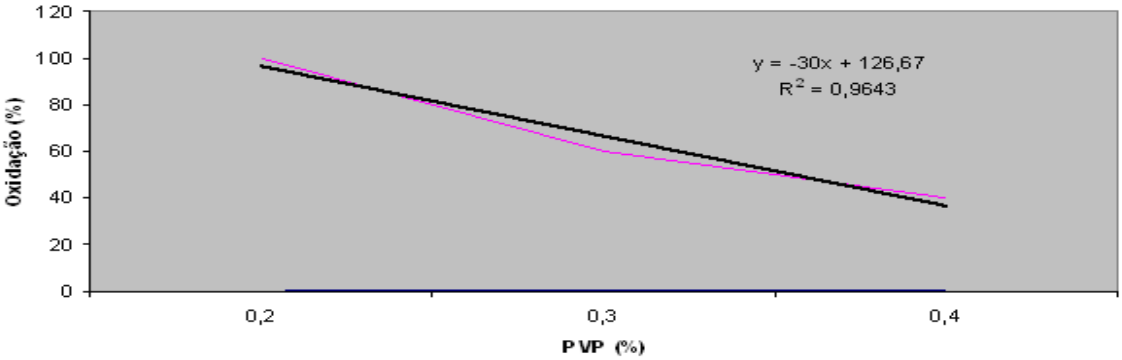


Figura 13. Efeito de PVP (Polivinilpirrolidona) na oxidação de explante de bananeira.

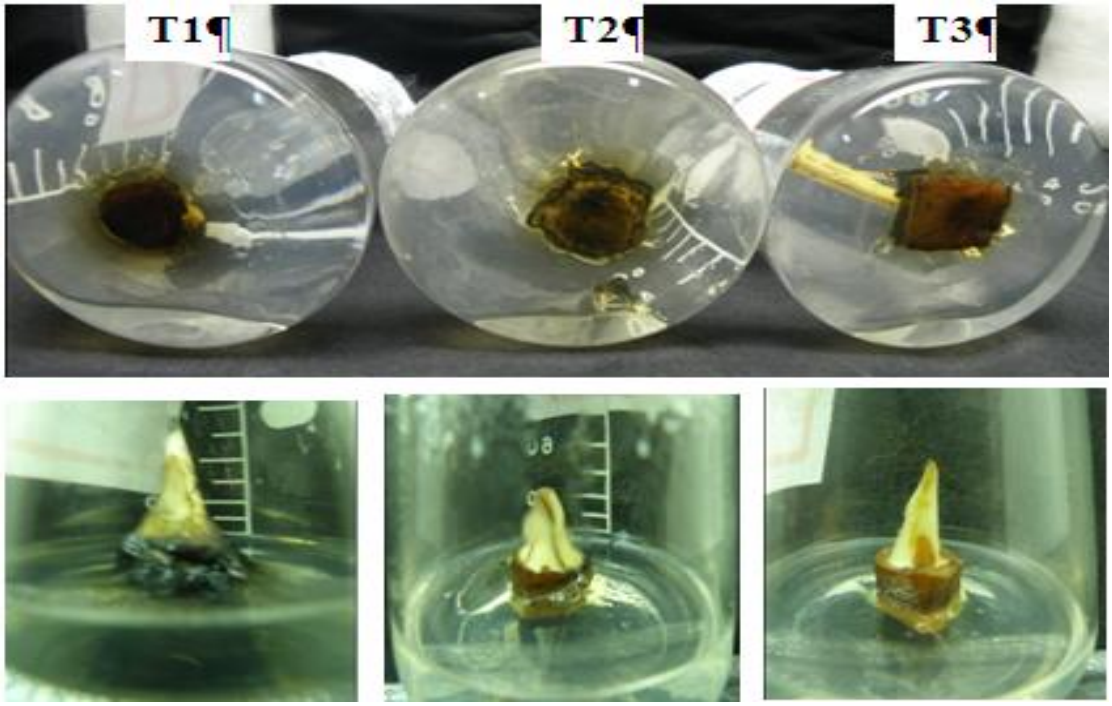


Figura 14. Explantes de banana submetidos a diferentes concentrações de PVP: 2 g.L^{-1} (T1), 3 g.L^{-1} (T2) e 4 g.L^{-1} (T3).

4.3 Multiplicação de Brotos

Considerando os rizomas provenientes do campo experimental da Embrapa Amazônia Oriental em Belém-PA, com exceção da cultivar Pacovan ken que não apresentou multiplicação de brotos devido perda de 100% dos seus explantes na etapa do estabelecimento da cultura,os explantes estabelecidos apresentaram no primeiro subcultivo taxa de multiplicação que variou em média de 2,00 a 4,75 brotos/rizoma ao final do primeiro subcultivo (Figura 15). A cultivar Caipira que possui grupo genômico AAA, apresentou maior média de brotos (4,75), diferindo estatisticamente ao nível de significância 5% de probabilidade da cultivar PV 03-76 (AAAB), que apresentou média de 2,00 brotos. Esta última não diferiu das demais cultivares: BRS Caprichosa, Thap Maeo e Preciosa (Tabela 4).

Tabela 4: Médias de brotos/rizoma resultantes do primeiro subcultivo de cultivares de bananeira oriundas do Município de Belém-PA.

Cultivar (Grupo genômico)	Média
Caipira (AAA)	4,75 a
BRS Caprichosa (AAAB)	4,00 ab
Thap Maeo (AAB)	4,00 ab
Preciosa (AAAB)	3,75 ab
PV 03-76 (AAAB)	2,00 b
Média Geral	3,70
DMS(Tukey)	2,49
CV (%)	30,82

Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade. CV= Coeficiente de variação.

Após o segundo subcultivo, a taxa de multiplicação variou em média de 5,25 a 11,50 brotos/rizoma e de 1,90 a 2,81 brotos/explante. Ao final do terceiro subcultivo, a taxa de multiplicação variou em média de 11,00 a 41,50 brotos/rizoma e de 2,17 a 3,69 brotos/explante (Tabela 5).

A cultivar Caipira (AAA) apresentou maiores médias de brotos/rizoma, 11,50 e 41,50, após o segundo e o terceiro subcultivos, respectivamente, sendo que no final do segundo subcultivo a taxa de multiplicação da cultivar Caipira não diferiu estatisticamente das demais e ao final do terceiro subcultivo diferiu apenas da cultivar Thap Maeo (AAB). Com relação à média de brotos/explante, a cultivar Caipira (AAA) apresentou maior média após o terceiro subcultivo, porém sem diferir significativamente das demais cultivares. Ao final do segundo subcultivo, a cultivar Thap Maeo (AAB) apresentou maior média, diferindo estatisticamente apenas da cultivar BRS Caprichosa (AAAB) (Tabela 5).

Tabela 5. Médias de número de brotos/rizomas e número de brotos/explante, após o segundo e terceiro subcultivos de cultivares de bananeira oriundas do Município de Belém-PA.

	Médias de Brotos/rizoma		Médias de Brotos/explante	
Cultivares (Grupo genômico)	2° Subcultivo	3° Subcultivo	2° Subcultivo	3° Subcultivo
Caipira (AAA)	11,50 a	41,50 a	2,40 ab	3,69 a
BRS Caprichosa (AAAB)	8,25 a	21,25 ab	1,90 b	2,24 a
Thap Maeo (AAB)	5,25 a	11,00 b	2,81 a	2,81 a
Preciosa (AAAB)	8,00 a	19,75 ab	2,12 ab	2,31 a
PV 03-76 (AAAB)	7,50 a	18,25 ab	2,62 ab	2,17 a
Média Geral	8,10	22,35	2,37	2,64
DMS (Tukey)	6,56	27,77	0,78	1,73
CV (%)	37,11	56,89	15,07	30,13

Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si no teste de Tuckey a 5% de probabilidade. CV= Coeficiente de variação.

Nos experimentos com rizomas das cultivares provenientes do Município de Baião-PA: a taxa de multiplicação de brotos/rizoma variou de 3,25 a 7,00 ao final do primeiro subcultivo. A cultivar Caipira (AAA) apresentou maior média de brotos (7,00) diferindo estatisticamente das demais cultivares, com exceção da cultivar PA 4244 que apresentou média de 4,75 brotos/explante (Tabela 6).

Tabela 6: Médias de brotos/rizoma das cultivares de bananeira oriundas do Município de Baião-PA, ao final do primeiro subcultivo.

Cultivares (Grupo genômico)	Médias
Caipira (AAA)	7,00 a
PA 4244 (AAAB)	4,75 ab
PV 03-76 (AAAB)	4,50 b
Bucaneiro (AAAA)	4,25 b
Fhia 18 (AAAB)	4,25 b
Preciosa (AAAB)	3,75 b
Pacovan Ken (AAAB)	3,75 b
BRS Garantida (AAAB)	3,50 b
Thap Maeo (AAB)	3,50 b
Japira (AAAB)	3,25 b
Tropical (AAAB)	3,25 b
Média Geral	4,15
DMS(Tukey)	2,34
CV (%)	23,02

Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade. CV= Coeficiente de variação.

Após o segundo subcultivo, a taxa de multiplicação variou em média de 5,75 a 15,00 brotos/rizoma e de 1,62 a 3,01 brotos/explante. Ao final do terceiro subcultivo, a taxa de multiplicação variou em média de 9,00 a 65,00 brotos/rizoma, e de 1,57 a 5,79 brotos/explante (Tabela 7).

Quanto à média de brotos/rizoma a cultivar Caipira (AAA) apresentou maior média após o segundo subcultivo (15,00) diferindo estatisticamente das demais cultivares: Pacovan Ken, Garantida, Thap Maeo e Japira, mantendo a maior média (65,00) no terceiro subcultivo que diferiu significativamente das demais cultivares. Para a média de brotos/explante a cultivar Caipira (AAA) manteve maior média (5,79) após o terceiro subcultivo, diferindo significativamente das demais cultivares, porém após o segundo subcultivo sem diferir

significativamente das demais cultivares, a cultivar PV 03-76 apresentou maior média que foi de 3,01 brotos/explante.

Tabela 7: Médias de brotos/rizomas e brotos/explante após segundo e terceiro subcultivos de cultivares de bananeira oriundas do Município de Baião-PA.

	Médias de Brotos/rizoma		Médias de Brotos/explante	
Cultivares (Grupo genômico)	2° Subcultivo	3° Subcultivo	2° Subcultivo	3° Subcultivo
Caipira (AAA)	15,00 a	65,00 a	2,52 a	5,79 a
PA 4244 (AAAB)	10,00 ab	30,00 b	2,16 a	2,89 b
PV 03-76 (AAAB)	11,50 ab	29,00 b	3,01 a	2,17 b
Bucaneiro (AAAA)	11,75 ab	20,00 b	2,94 a	1,69 b
Fhia 18 (AAAB)	7,50 ab	19,50 b	1,79 a	2,73 b
Preciosa (AAAB)	7,75 ab	25,00 b	1,89 a	3,00 b
Pacovan Ken (AAAB)	6,00 b	13,25 b	1,62 a	2,06 b
BRS Garantida (AAAB)	6,50 b	20,25 b	1,85 a	2,46 b
Thap Maeo (AAB)	6,75 b	11,50 b	1,89 a	1,57 b
Japira (AAAB)	5,75 b	9,00 b	1,67 a	1,67 b
Tropical (AAAB)	9,25 ab	24,75 b	2,83 a	2,78 b
Média Geral	8,89	24,30	2,20	2,62
DMS (Tukey)	8,23	28,60	1,72	1,74
CV (%)	37,92	48,20	32,13	27,23

Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si no teste de Tuckey a 5% de probabilidade. . CV= Coeficiente de variação.

Após o primeiro subcultivo, a média de brotos/rizoma variou de 2,00 a 4,75 (Tabela 4) e de 3,25 a 7,00 (Tabela 6) para os rizomas oriundos dos municípios de Belém-PA e de Baião-PA, respectivamente. Esses índices são aceitáveis, uma vez que Vuylsteke & De Langhe (1985), Banerjee & De Langhe (1985) e Wong (1986) apontam que a taxa de multiplicação pode variar entre duas e dez plântulas por subcultivo a cada quatro a cinco semanas. No entanto, segundo Jarret et al. (1985), podem ser obtidas até 31 plântulas por subcultivo.

Avaliando-se a taxa média de multiplicação absoluta, foi observado que houve diferença entre os genótipos na avaliação em cada subcultivo. A cultivar Caipira (AAA) se destacou, apresentando maior número de brotos/rizoma e brotos/explante *in vitro* (Tabelas 4,5,6,e 7), tanto para os rizomas provenientes de Belém quanto de Baião, indicando que esse genótipo é o que apresenta melhor performance *in vitro*. Em trabalho realizado por Lima & Moraes (2006), o genótipo Caipira apresentou rendimento (taxa de multiplicação estimada acumulada) de pelo menos duas vezes superior aos demais genótipos no quinto subcultivo, a taxa de multiplicação também variou entre os genótipos estudados.

Segundo Jarret (1986), existem diferenças significativas na capacidade de proliferação *in vitro* de cada cultivar de bananeira, embora todos os genótipos tenham respondido favoravelmente à técnica de micropropagação por ápices caulinares. No nosso trabalho não foram observadas grandes diferenças quanto ao número de plântulas obtidas por explante inicial das cultivares de grupos genomicos triplóiodes AAA e AAB, embora Sandoval et al. (1991) salientem que existem diferenças inclusive entre clones de uma mesma cultivar.

Foi observado que após o terceiro subcultivo, a média geral de brotos/explante das cultivares de material proveniente de Belém e Baião foram de 2,64 (Tabela 5) e 2,62 (Tabela 7), resultados semelhantes foram encontrados no trabalhos de Oliveira et al., (2001) onde a a taxa média de multiplicação foi de 2,53 por subcultivo, no meio de cultura em que foi adicionado 2,5 mg L^{-1} de BAP.

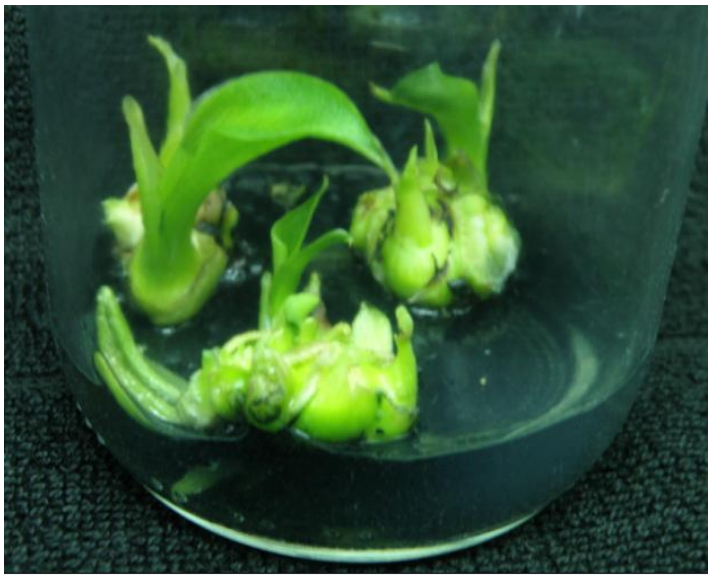


Figura 15. Multiplicação de brotos.

4.4 Enraizamento

A capacidade de enraizamento de brotos das cultivares PV 03-76 e Pacovan Ken após quatro semanas nos tratamentos T1 (meio MS), T2 (meio ½ MS), T3 (meio MS e 1µM de AIB) e T4 (meio ½ MS e 1µM de AIB) não apresentou diferença estatística (Figura 16).

Foi observado no tratamento T2 que os brotos da cultivar PV 03-76 apresentaram maiores médias com 5,40 raízes e 4,14 cm de comprimento de raízes, não diferindo estatisticamente dos demais tratamentos (Tabela 8). O tratamento T2 também apresentou maior média de 4,68 cm para o comprimento das raízes na cultivar Pacovan Ken, seguido dos tratamentos T3, T4 e T1, porém para o número de raízes o tratamento T3 apresentou maior média de 4,80 raízes, seguido dos tratamentos T1, T4 e T2 sem diferença significativa (Tabela 9).

Tabela 8: Médias de número e do comprimento de raízes em diferentes tratamentos nas cultivares PV 03-76.

Tratamentos	Média de número de raízes	Média do comprimento de raízes
T2 (½ MS)	5,40 a	4,14 a
T1 (MS)	4,40 a	2,98 a
T4 (½ MS + 1 µM AIB)	3,80 a	3,16 a
T3 (MS + 1 µM AIB)	3,40 a	2,68 a
Média Geral	4,25	3,24
DMS (Tukey)	2,87	2,21
CV (%)	37,39	37,82

Letras iguais, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade. CV= Coeficiente de variação.

Tabela 9: Médias de número e do comprimento de raízes em diferentes tratamentos nas cultivares Pacovan Ken.

Tratamentos	Média do número de raízes	Média do comprimento de raízes
T3 (MS + 1 µM AIB)	4,80 a	4,18 a
T1 (MS)	4,20 a	3,58 a
T4 (½ MS + 1 µM AIB)	3,80 a	3,78 a
T2 (½ MS)	3,60 a	4,68 a
Média Geral	4,10	4,05
DMS (Tukey)	2,91	3,04
CV (%)	39,33	41,54

Letras iguais, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade. CV= Coeficiente de variação.

Foi observado após quatro semanas de cultivo nos diferentes tratamentos utilizados, o percentual de emissão de raiz das cultivares PV 03-76 e Pacovan Ken. Para a cultivar PV 03-76 os tratamentos T1,T2 e T3 apresentaram o mesmo percentual de 93,33%, apresentando menor percentual o tratamento T4 que foi de 66,67%. Já a cultivar Pacovan Ken apresentou diferentes valores sendo de 93,33%; 86,67%; 73,33% e 60,00% nos tratamentos T2, T1, T3 e T4 respectivamente. Esses valores mostram que os diferentes meios de cultura utilizados foram eficientes no processo de emissão de raiz, ou seja no enraizamento das cultivares em estudo (Figura 16).

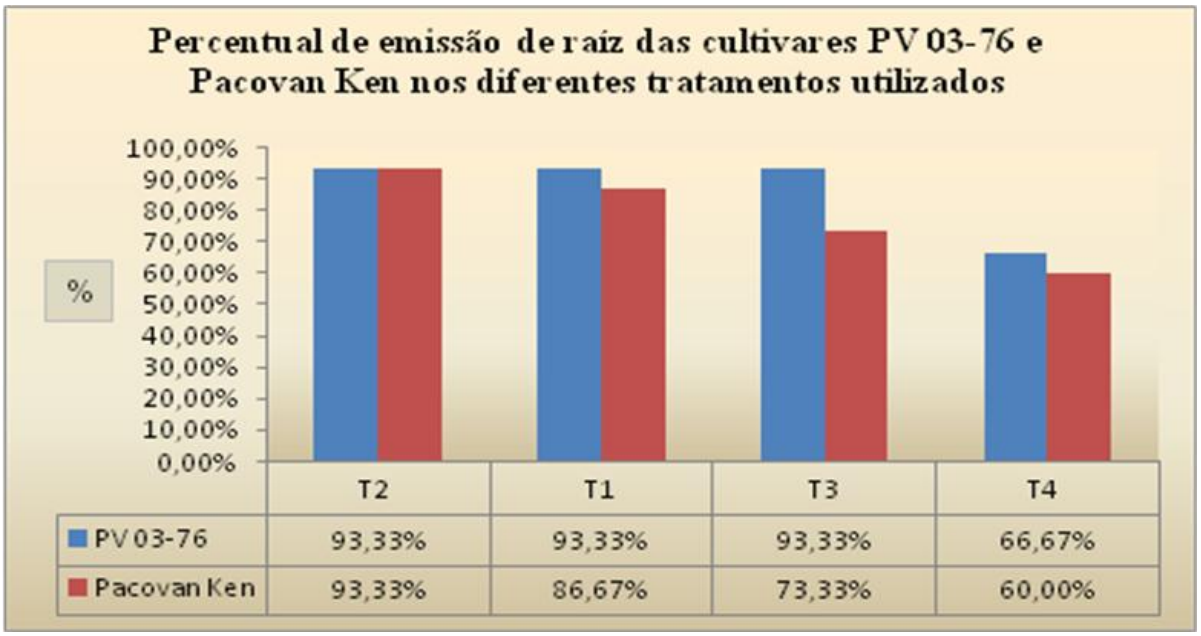


Figura 16. Percentual de emissão de raiz das cultivares PV 03-76 e Pacovan Ken após quatro semanas em cultivos nos tratamentos: T1 (meio MS), T2 (meio ½ MS), T3 (meio MS e 1µM de AIB) e T4 (meio ½ MS e 1µM de AIB).

A utilização de meio ½ MS foi efetivo no enraizamento dos brotos, e corroboram com os resultados relatados por Braga et al. (2001), que mostraram a não-utilização de regulador de crescimento e a redução dos nutrientes pela metade serem eficientes para aumentar o vigor vegetativo das culturas, uma vez que os brotos obtidos durante a fase de enraizamento apresentaram quase o dobro do tamanho dos brotos das fases de multiplicação. Isto era esperado, pois uma vez enraizados, os brotos têm maior capacidade de absorção dos nutrientes. Esta eficácia também foi comprovada por Domingues et al. (1995) e Oliveira & Silva (1997). Inclusive, Souza & Gonçalves (1996) sugeriram que a melhor adequação dos nutrientes favoreceria a rizogênese das plantas. Analisando diversos trabalhos, Grattapaglia & Machado (1990) verificaram que diversas espécies, principalmente herbáceas, enraízam na presença de níveis muito reduzidos de auxina, ou, simplesmente, em meio básico sem hormônio.

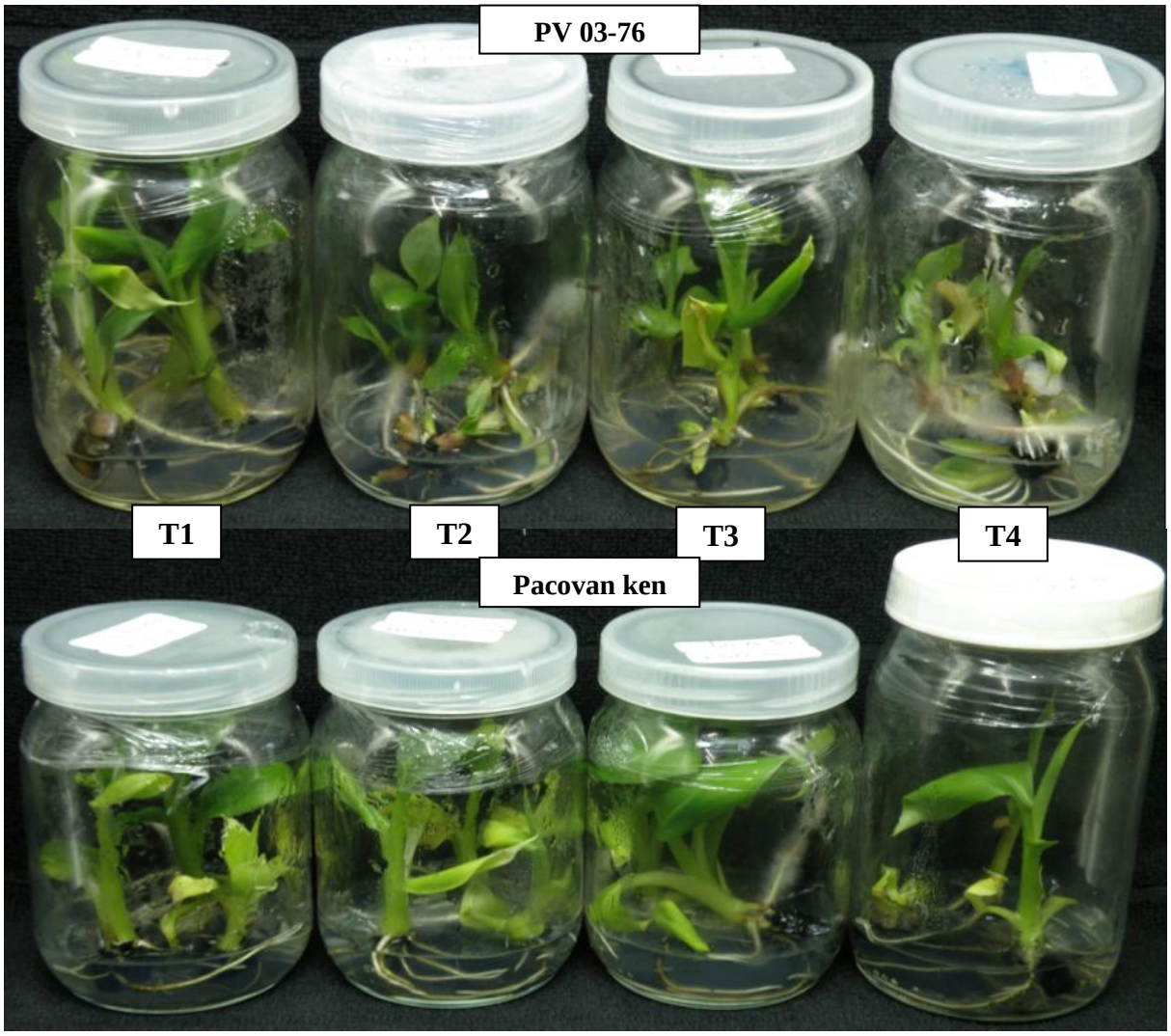


Figura 17. Brotos da cultivar PV 03-76 e Pacovan Ken enraizados *in vitro*, considerando diferentes tratamentos de meio de enraizamento: T1 (meio MS), T2 (meio ½ MS), T3 (meio MS e 1µM de AIB) e T4 (meio ½ MS e 1µM de AIB).

5. CONCLUSÕES

A micropropagação de mudas de bananeira das cultivares: Bucaneiro (AAAA), Caipira (AAA), BRS Caprichosa (AAAB), Fhia 18 (AAAB), BRS Garantida (AAAB), Japira (AAAB), Pacovan Ken (AAAB), PA 4244 (AAAB), Preciosa (AAAB), PV 03-76 (AAAB), Thap Maeo (AAB) e Tropical (AAAB), resistentes a doenças, segundo o método avaliado, aumenta muito a quantidade de material vegetal com alta qualidade genética e fitossanitária.

Os usos do antioxidante PVP na concentração 0,4 % e do antibiótico sulfato de estreptomicina na concentração de 100 $mg.L^{-1}$ são eficientes na diminiuição da oxidação e aspectos de contaminação respectivamente, independente da cultivar de banana utilizado.

A multiplicação de brotos foi elevada em todas as cultivares, independente do local de coleta, municípios de Belém-PA e Baião-PA, mostrando que não há interferência do ambiente na performance das cultivares *in vitro*.

O meio de cultura com metade das concentrações dos sais de MS (Murashige & Skoog, 1962) é eficiente para o enraizamento das cultivares PV 03-76 e Pacovan-ken.

6. REFERÊNCIAS

ÁLVARES, M. do C.; CALDAS, L. S. Crescimento, produção e variação somaclonal em bananeiras micropropagadas. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 37, n. 3, p. 415-420, 2002.

ALVES, E. J. **A cultura da banana: aspectos técnicos, sócio-econômicos e agro-industriais.** Brasília: EMBRAPA-SPI/Cruz das Almas, 2º edição - 585p. 1999.

ALVES, S. A. O. **Resgate *in vitro* de híbridos interespecífico de dendezeiro (*Elaeis guineensis x Elaeis oleifera)***. Belém. 2007. 55p. Dissertação de mestrado. Universidade Federal Rural da Amazônia/Museu Paraense Emilio Goeldi. 2007.

ANDRADE, S. R. M. de. **Princípios da cultura de tecidos vegetais**. Planaltina. Embrapa Cerrados, 16p. 2002 (Documentos/ Embrapa Cerrados, ISNN 1517-5111; 58).

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.

AUGUSTO C. S. S.; BIASI, L. A. Micropropagação da amoreira-preta cv. Brazos. **Scientia Agrária** v.3, n.1-2, p.113-132, 2002

BASSAN, J. S.; REINIGER, L. R. S.; ROCHA, B. H. G.; SEVERO, C. R. P.; FLÔRES, A. V. Oxidação fenólica, tipo de explante e meios de cultura no estabelecimento *in vitro* de Canafístula (*Peltophorum dubirum* (SPRENG/TAUB). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.16, n.4, p.381-390; 2006.

BAIRU, M. W.; FENNEL, 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.

BANERJEE, N. & E. DE LANGHE. A tissue culture technique for rapid clonal propagation and storage under minimal growth conditions of Musa (banana and plantain). **Plant Cell Reports**, 4 (6): 351-354. 1985.

BOAS, C. V.; TENENTE, R. C. V.; GONZAGA, V.; NETO, S. P. da S.; ROCHA, H. S. Reação de clones de bananeira(*musa* spp.) ao nematóide *meloidogyne incognita* (kofoid & white, 1919) chitwood, 1949, raça 2. **Revista brasileira de fruticultura**, jaboticabal - SP, v. 24, n. 3, p. 690-693, 2002.

BORGES, A. L.; OLIVEIRA, A. M. G.; RITZINGER, C. H. S. P.; ALMEIDA, C. O. de; COELHO, E. F.; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; SOUZA, L. da S.; LIMA, M. B; FANCELLI, M.; FOLEGATTI, M. I. da S.; FILHO, P. E. M.; SILVA, S. de; MEDINA, V . M.; CORDEIRO, Z. J. M. **A cultura da banana/ Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical,** - 3. ed. rev. e amp. – Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, (Coleção Plantar, 56). 2006.

BRAGA, M. F.; SÁ, M. E. L. de; MUSTAFÁ, P. C. Avaliação de um protocolo para multiplicação *in vitro* da bananeira (*Musa sp*.) cv. caipira (AAA). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 23, n. 2, p. 215-219, 2001.

BUCKLEY, P.; DeWILDE, T.; REED, B. Caracterization and identification of bacteria isolated from micropropagated mint plants. In Vitro Cellular and Developmental Biology, v.31, p. 58-64, 1995.

CAMOLESI, M. R.; KAIHARA, E. S; SACONI, C. G.; FARIA, R. T. de; NEVES, C. S. V. J. Redução da oxidação na propagação *in vitro* da bananeira maçã. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1237-1241, 2007.

CASTRO, A. C. R. de.....[et al.]. **Aspectos práticos da micropropagação de plantas** – Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, p.385, 2009.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; SESTARI, I. **Manual de Fisiologia Vegetal: fisiologia dos cultivos** – Piracicaba: Editora Agronômica Ceres, 864p. 2008.

CHEESMAN, E. E. Classification of the bananas. II. The genus *Musa* L. **Kew Bulletin**, London, n.2, p.106-117,1948.

CORDEIRO, I. M. C. C.; LAMEIRA, O. A.; LOPES, S. C.; RIOS, M. S. Germinação *in vitro* de paricá. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 27, 2002.

COSTA, F. H. da S.; PEREIRA, J. E. S.; PEREIRA, M. A. A.; OLIVEIRA, J. P. de.; Efeito da interação entre carvão ativado e n6-benzilaminopurina na propagação *in vitro* de bananeira, cv. grand naine (AAA) **Revista Brasileira de Fruticultura,** Jaboticabal - SP, v. 28, n. 2, p. 280-283, Agosto 2006.

CRIAR E PLANTAR. Disponível em: http: // www.criareplantar.com.br/artigos/ler/?idArtigo=12999 Acesso em 12 Maio. 2008.

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

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, 213 p. 2001.

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.

DOMINGUES, E. T.; TULMANN, N. A.; MENDES, B. M. J. Cultura de ápices caulinares de Musa sp., var.Maçã: estabelecimento, micropropagação e enraizamento *in vitro*. **Scientia Agrícola**, 52 (2): 387-394. 1995.

DURAND-CRESSWELL, R.; BOULAYL, M.& FRANCLET, A. Vegetative propagation of *Eucaliptus*. In: **Tissue Culture in Forestry.** Bonga & Durazan, eds. MartinusNijhoff. The Hague. p. 15-151, 1982.

FERREIRA, D.F. **Uso de Recursos Computacionais Utilizando R**. LAVRAS,Minas Gerais – Brasil, 2009.

FIGUEIREDO, D. V.; BRIOSO, P. S. T.; PCR *multiplex* para a detecção de BSV e CMV em bananeiras micropropagadas. **Summa Phytopathol**., Botucatu, v. 33, n. 3, p. 229-232, 2007.

FIGUEIREDO SFL; ALBARELLO N; VIANA VRC. Micropropagation of *Rollinia mucosa* (jacq.) Baill. **In Vitro Cell Developmental Biology Plant** 37: 471-475. 2001.

FIORAVANÇO, J. C. Mercado mundial de banana: produção, comércio e participação brasileira. **INFORMAÇÕES ECONÔMICAS**, São Paulo, v.33 n.10, out. 2003.

GANGA, R.M.D. Resultados parciais sobre o comportamento de seis cultivares de banana (*Musa* spp) em Jaboticabal. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA,** 17, 2002, Belém. **Anais...** Belém Embrapa/DDT, 2002. CD- ROM.

GARCIA, E.V.; RAFAEL, M. Control de la oxidacion y contaminacion em microesquejes de café (Coffea arabica “Catimor”) cultivados in vitro. **Agronomia Tropical**, Venezuela, v.40, p. 281-290, 1990.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI, v. 1, p. 183-260. 1998.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C. & CALDAS, L.S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas.** Brasília: EMBRAPA/CNPH, p.99-169. 1990.

GUPTA, P. F. Eradication of mosaic disease and rapid clonal multiplication of bananas and plantains through meristem tip culture. **Plant Cell Organ Culture,** Dordrecht, v. 6, n. 1, p. 33-39, Jan. 1986.

HALDEMAN, J. H., THOMAS, R. L., MCKAMY, D. L. Use of benomyl and rifampicin for in vitro shoot tip culture of Camellis sinensis and C. japonica. **Hort Science**, 22: 306-7. 1987.

HAMILL, S. D., SHARROCK S. L.; SMITH, M. K. Comparasion of descontamination methods used in initiation of banana Tissue cultures from field-collected suckers. **Plant Cell, tissue and Organ Culture**, v 33: 343-6. 1993.

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, P. 151-156. 1987.

ISRAELI, Y.; REUNEVI, O.; LAHAV, E. Qualitative aspects of somaclonal variation by *in vitro* techniques. **Scientia Horticulturae,** Amsterdam, v.48, n.2, p. 71-88, 1991.

JARRET, R. L. *In vitro* propagation and genetic conservation of bananas and plantains. In: INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES (Roma). **IBPGR advisory committee on *in vitro* storage.** Roma. P.15-33.1986.

JARRET, R. L.; RODRIGUEZ, W.; FERNANDEZ, R. Evaluation, tissue culture propagation, and dissemination of Saba and Pelipita plantains in Costa Rica. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 25, p. 137-147, 1985.

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,** Amsterdan, v.81, n.2, p.159-177, 1999.

LACERDA, F.da C. B.; LEMOS, O. F.de; Efeito de agentes desinfestantes e antioxidantes no estabelecimento de ápices caulinares *in vitro* de cultivares de bananeira. **VI Seminário de Iniciação Científica da UFRA e XII Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA Amazônia Oriental. Anais**. Belém /PA- 2008.

LAMEIRA, O. A.; LEMOS, O. F.; MENEZES, I. C. de; PINTO, J. E. B. P. **Cultura de tecidos (manual)**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 41 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 66). 2000.

LANE, W.D. Regeneration of apple plants from shoot meristem tips. **Plant Science Letters.** v.13, p. 281-285, 1978.

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.

LEIFERT, C., RITCHIE, J. Y., WAITS, W. M. Contaminants of plant-tissue and cell cultures. **World Journal of Microbiology and Biotechnology,** 7: 452-69. 1991.

LIMA, J. D.; MORAES, W. da S. Concentração de benzilaminopurina e avaliação de protocolo para multiplicação *in vitro* de genótipos de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, 36 (1): 13-19, 2006.

LIMA, M. B.; SILVA, S. de O.; FERREIRA, C. F. **Banana: O produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa Mandioca e Fruticultura. 182p. 2003.

LOPES, C.A. Contaminações bacterianas em cultura de tecidos. **ABCTP Noticias**, n.13, p.35-40, 1988.

MANICA, I. **Bananas: do plantio ao amadurecimento**- Porto Alegre: Cinco Continentes, 99p. 1998.

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**, p. 353-380. 2003.

MELO B; PINTO JEBP; LUZ JMQ; PEIXOTO JR; JULIATTI FC. Diferentes antioxidantes no controle da oxidação, germinação e desenvolvimento das plântulas na cultura *in vitro* de embriões de guarirobeira [*Syagrus oleracea* (MART.) BECC]. **Ciência e Agrotecnologia** 25: 1301-1306. 2001.

MOREIRA, R. S, **Banana Teoria e Prática de Cultivo**. 2ª Edição, Fundação Cargill, São Paulo, 299p. 1999.

MOREIRA, R. S. **Banana: teoria e prática de cultivo.** Fundação Cargill. Campinas, 335p. 1987.

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

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

NIETSCHE, S.; MARQUES, S. V.; PEREIRA, M. C. T.; SALLES, B.; XAVIER, A. A.; FRANÇA, A. C.; LIMA, C. de ; SILVA, L. S. Estabelecimento *in vitro* de explantes de três cultivares de bananeira. **Ciência Rural**, v.36, n.3, p.989-991, mai-jun, 2006.

OLIVEIRA, R. P. de.; SILVEIRA, D. G.; SILVA, S. de O. e. Concentração de BAP e a eficiência de micropropagação de bananeira tetraplóide (grupo AAAB). **Scientia Agrícola.** vol.58 n.1 Piracicaba. 2001.

OLIVEIRA, R. P. de.; SILVA, S. O. Micropopagação massal de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 32 (4): 415-420. 1997.

PASQUAL M; HOFFMANN A; RAMOS JD. **Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações – introdução: fundamentos básicos. Lavras**: UFLA/FAEPE. 159 p. 1997.

PEREIRA, M. C. T.; NIETSCHE, S; FRANÇA, A. C.; NUNES, C. F., LIMA, C. de; GONÇALVES, V.; SALLES, B. P., MORAIS, D. L. B., KOBAYASHI, M. K., Aclimatização de mudas micropropagadas de bananeira sob diferentes condições de luminosidade, **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 27, n. 2, p. 238-240, 2005.

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.

POLLOCK, K., BARFIELD, D. G., SHIELDS, R.. The toxicity of antibiotics to plant cell cultures. **Plant Cell**, v 2, p.36-39. 1983.

POLTRONIERI, L. S.; FIGUEIREDO, D. V.; BRIOSO, P. S. T.; VERZIGNASSI, J. R.; CARDOSO, S. S. **Constatação do *Banana streak Uganda B virus* em bananeiras no Estado do Pará,** Summa Phytopathol**.,** Botucatu, v. 35, n. 1, p. 74, 2009.

Produção Agricola Municipal: culturas temporárias e permanentes/ **IBGE**. – V.1 (1974) – Rio de Janeiro: IBGE, 1977 v. Anual. Continuação de Levantamento da produção agrícola municipal , Rio de Janeiro, v.35, p.1-93, 2008.

SÁ, M. E. L. de; BRAGA, M. F.; Avaliação de protocolo para obtenção de mudas micropropagadas de bananeira cv. Prata-anã (subgrupo AAB), **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 24, n. 1, p. 236-239, abril 2002.

SANDOVAL, J.A.F.; BRENES, G.G.; SANCHEZ, L.P. **Micropropagación de platano y banano (*Musa* AAB, AAA) en el CATIE**. Turrialba: CATIE, 29p. 1991. (Serie Técnica. Informe Técnico/CATIE, 186).

SANTOS-SEREJO, J. A. dos S.; SOUZA, A. da S.; MORAIS, L. S.; SOARES, T. L.; SOUZA, F. V. D.; KOBAYASHI, A. K.; FERREIRA, C. F.; SILVA, S. de O.; Biotecnologia: algo mais que plantas transgênicas. **XVII Reunião Internacional da Associação para a Cooperação nas Pesquisas sobre Banana no Caribe e na America Tropical. Joinvile – Santa Catarina – Brasil.**15 a 20 de outubro de 2006.

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 Agrícola** , Piracicaba, v.55, n.1,p. 86-93, 1998.

SHEPHERD, K. Observations on *Musa* taxonomy. In: IDENTIFICACION OF GENETIC DIVERSITY IN THE GENUS *MUSA*, 1988, Los Baños **Proceedings…**Montpellier: INIBAP, p.158-165. 1990.

SILVA, E. A. da; BOLIANI, A. C.; CORRÊA, L. de S**.;** Avaliação de cultivares de bananeira (*Musa* sp) na região de Selvíria-MS, **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 28, n. 1, p. 101-103, 2006.

Sistema de Produção de banana para o Estado do Pará – 2003. Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananaPara/cultivares.htm. Acesso em 6 de Ago. 2009.

SIVIERO, A., LEDO, A. da S.; Avaliação de genótipos de banana à sigatoca-amarela na amazônia ocidental. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 24, n. 3, p. 724-726, 2002.

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.S. et al. Propagação. In: ALVES, E.J. (Org). **A cultura da banana: aspectos técnicos**, socioeconômicos e agroindustriais. Brasília: Embrapa-SPI/ Cruz das Almas: Embrapa-CNPMF, p.157-195. 1999.

SOUZA, G.M.; GONÇALVES, A.N. Otimização de meio de cultura para bananeira (Musa cavendishii L.) **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 53, n.1, p.51-59, 1996.

TAHPRESERT, P; REED, B. Detection and identification of bacterial contaminants of strawberry runner explants. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 52, p. 53-55, 1998.

TORRES, A. C., CALDAS, L. S., FERREIRA A. T. **Retrospectiva da cultura de tecidos de plantas.** p.11-20. In TORRES A. C., CALDAS L. S., BUSO, J. A. (Eds). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. v. 1. CNPH - Embrapa. Brasília, DF. 509p. 1998.

VAN WINKLE, S.; JOHNSON, S.; PULLMAN, G.S.The impact of gelrite and activated carbon on the elemental composition of plant tissue culture media. **Plant Cell Report,** New York, v.21, p.1175-1182, 2003.

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.

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

VUYLSTEKE, D. E. & E. DE LANGHE, **Feasibility of in vitro propagation of bananas and plantains.** Tropical Agriculture, 62 (4): 323-328. 1985.

WIKIPEDIA, 2009. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/Banana. Acesso em 5 de Out. 2009.

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**, 6 (2): 159-166. 1986.

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.

ZIV, M. & HALEVY, A.H. Control of oxidative browning and *in vitro* propagation of *Strelitzia reginae*. **HortScience**, vol. 18, p.434-436, 1983.

ANEXO A - Composição de meio básico de cultura de Murashige Skoog (1962).

Composto	MS ($mg.L^{-1}$)
Macronutrientes	
- KNO_3	1.900
- NH_4NO_3	1.650
- $MgSO_4.7H_2O$	370
$CaCl_2.2H_2O$	440
KH_2PO_4	170
Micronutrientes	
$MnSO_4.\ 4H_2O$	22,3
KI	0,83
H_3BO_3	6,2
$ZnSO_4.7H_2O$	8,6
$CuSO_4.5H_2O$	0,025
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0,25
$CoCl_2.6H_2O$	0,025
Fe-EDTA	
$FeSO_4.7H_2O$	27,8
NaEDTA	37,3
Vitaminas	
Tiamina - HCl	0,1
Ácido nicotínico	0,5
Piridoxina – HCl	0,5
Glicina	2,0
Mioinositol	100,0

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo