

CONCENTRAÇÃO DE BENZILAMINOPURINA E AVALIAÇÃO DE PROTOCOLO PARA MULTIPLICAÇÃO IN VITRO DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA¹

Juliana Domingues Lima¹ e Wilson da Silva Moraes²

ABSTRACT

CONCENTRATION OF BAP AND EVALUATION OF
IN VITRO MULTIPLICATION PROTOCOL
FOR BANANA GENOTYPES

The purpose of this study was to evaluate a protocol for *in vitro* multiplication of four *Musa* spp. genotypes. Previous tests indicated the utilization of an ideal benzilaminopurin concentration of 5.0 mg L⁻¹; 5.0 mg L⁻¹; 4.5 mg L⁻¹ e 4.0 mg L⁻¹ in culture medium MS, during the multiplication of Caipira, Thap maeo, PV03-44 and FHIA-01 genotypes, respectively. After that, the multiplication rate, the size of shoots produced per explant, fungal and bacterial contamination rate, oxidation rate, and abnormality occurrence in the multiplication phases were evaluated. The multiplication rate and the size of shoots produced per explant varied among genotypes in the five subcultures studied. The highest contamination rate was caused by bacteria and was more frequent in the *in vitro* establishment, tending to be reduced with the number of subcultures. The most of the genotypes did not present problems of microorganism contamination, except for Caipira cultivar which presented high bacterial contamination rate during *in vitro* establishment. This problem is a limitation of the protocol to obtain micropropagated plantlets of this genotype.

KEY WORDS: *Musa* spp., micropropagation, tissue culture, benzilaminopurin.

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar um protocolo para multiplicação *in vitro* para quatro genótipos de bananeira (*Musa* spp.) em escala comercial. Testes preliminares indicaram a utilização das concentrações ótimas de 5,0 mg L⁻¹; 5,0 mg L⁻¹; 4,5 mg L⁻¹ e 4,0 mg L⁻¹ de benzilaminopurina no meio de cultura MS, para a multiplicação dos genótipos Caipira, Thap maeo, PV03-44 e FHIA-01, respectivamente. Em seguida, avaliou-se a taxa de multiplicação, o tamanho de brotos produzidos por explante, a taxa de contaminação por fungos e bactérias, a taxa de oxidação e a ocorrência de anormalidades durante as fases da multiplicação. A taxa de multiplicação e o tamanho de brotos por explante variou entre genótipos nos cinco subcultivos realizados. A taxa de contaminação mais elevada foi de origem bacteriana e mais freqüente na fase de estabelecimento *in vitro*, com tendência de redução à medida que foram realizados os subcultivos. A maioria dos genótipos não apresentou problemas de contaminação por microorganismos, exceto a cultivar Caipira que apresentou elevada taxa de contaminação por bactérias na fase de estabelecimento *in vitro*, o que representa uma limitação do protocolo para a multiplicação comercial desse genótipo.

PALAVRAS-CHAVE: *Musa* spp., micropropagação, cultura de tecidos, benzilaminopurina.

INTRODUÇÃO

Vários programas de melhoramento genético têm sido estabelecidos nos últimos anos devido à alta incidência de patógenos que vêm atacando severamente a bananeira (Sági *et al.* 1998). Assim, é crescente a demanda por mudas sadias da espécie, para o estabelecimento de novos plantios e a recuperação de bananais, o que normalmente vem

sendo realizado por meio da multiplicação *in vitro* (Declercck *et al.* 2002).

Essa técnica envolve o cultivo de ápices caulinares e tem como base a propagação pela organogênese direta de gemas axilares (Vasil 1994). Uma das principais vantagens é a obtenção de plantas livres de patógenos e pragas, o que reduz a dispersão de organismos fitoparasitas (Damasco *et al.* 1996). Além disso, pode fornecer rapidamente um grande

1. Trabalho recebido em fev./2005 e aceito para publicação em fev./2006 (registro nº 621).

2. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Unidade Diferenciada de Registro. E-mail: judlima@registro.unesp.br.

3. Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento, Regional Vale do Ribeira. Av. Wild José de Souza, n.454, Centro. CEP 11.900-000, Registro, SP.

número de mudas de materiais genéticos novos, em reduzido espaço físico (Vuylsteke & Ortiz 1996).

Embora já existam protocolos variados, faz-se necessário avaliar a qualidade do sistema comercial de multiplicação *in vitro*, uma vez que esta é influenciada por diversos fatores como taxa de multiplicação, altura das plantas, presença e intensidade de estiolamento, forma, coloração e tamanho das folhas, formação de calos, desenvolvimento de raízes, perdas por contaminação microbiana, oxidação e eficiência da aclimação (Oliveira *et al.* 2001). O aprimoramento constante dos processos de multiplicação *in vitro* e o controle da qualidade das mudas, aliados à redução de custos, são essenciais para aceitação no mercado (Assis *et al.* 2000).

No Brasil, apesar da técnica de multiplicação *in vitro* de bananeira ser bastante difundida, percebe-se que há deficiência de trabalhos que visem ao aumento da taxa de multiplicação de algumas cultivares importantes, levando em consideração, além das variações somaclonais, os custos de produção (Lemos *et al.* 2001). Além disso, ainda hoje, há falta de domínio dessa tecnologia para cultivares novas e algumas cultivares regionais de bananeira, sendo responsável pela colocação de mudas de qualidade duvidosa no mercado, trazendo prejuízos aos agricultores.

Entre as cultivares novas estão os genótipos Caipira e Thap maeo, resistentes a Sigatoka Negra, Sigatoka Amarela e Mal do Panamá, o genótipo FHIA-01, resistente a Sigatoka Negra e tolerante ao Mal-do-Panamá, e o genótipo PV03-44, resistente a Sigatoka Amarela e tolerante ao Mal-do-Panamá. Todos são promissores para recomendação aos produtores de distintas regiões do país e carecem, assim, de protocolos ótimos para a produção comercial de suas mudas. Dada a importância estratégica da multiplicação rápida para atender essa demanda por mudas de bananeira, este trabalho teve como objetivo avaliar protocolos para multiplicação *in vitro* destes quatro genótipos.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal

Utilizaram-se perfilhos com menos de 30 cm de altura, provenientes de matrizes de bananeira dos genótipos Caipira ou Yamgambi Km 05 (cultivar do grupo genômico AAA), Thap maeo (cultivar do grupo

genômico AAB, subgrupo Prata), PV03-44 (híbrido do grupo genômico AAAB, subgrupo Prata/Pacovan) e FHIA-01 (híbrido do grupo genômico AAAB, subgrupo Prata). Os perfilhos foram coletados em jardins clonais do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá (IEPA) e da Embrapa Amapá (CPAF/Embrapa), em Macapá-AP (00°02'21"S, 51°05'35"W e altitude de 16 m).

Determinação da concentração ótima de benzilaminopurina (BAP) no meio de cultura de multiplicação

Um dia após a coleta dos perfilhos, estes foram transportados até o Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do IEPA. Em seguida, os ápices caulinares foram isolados e desinfetados por imersão em álcool 70%, durante trinta segundos e em hipoclorito de sódio a 1%, contendo quatro gotas de Tween-20, durante vinte minutos e sob agitação constante. Na seqüência, os ápices caulinares passaram por três lavagens consecutivas em água esterilizada. Em câmara de fluxo laminar, os ápices caulinares foram reduzidos e inoculados em meio MS (Murashige & Skoog 1962), contendo metade da concentração de sais, pH 5,8 (ajustado antes da autoclavagem) e suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose e 7,0 g L⁻¹ de ágar.

Quatro semanas após a inoculação, os ápices caulinares de cada genótipo foram divididos em quatro partes e distribuídos em frascos contendo meio de cultura MS, pH 5,8 (ajustado antes da autoclavagem), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 7,0 g L⁻¹ de ágar e BAP, em diferentes concentrações (zero; 1,0 mg L⁻¹; 2,0 mg L⁻¹; 3,0 mg L⁻¹, 4,0 mg L⁻¹ e 5,0 mg L⁻¹).

No processo de multiplicação efetuaram-se cinco subcultivos, com duração de cerca de trinta dias, realizando-se o cultivo das gemas laterais provenientes da subdivisão longitudinal dos explantes e, ou, do isolamento das brotações, com o corte das folhas sempre que possível. No final de cada subcultivo, os brotos foram isolados e reinoculados em meio de cultura.

Os explantes, durante as fases de estabelecimento e de multiplicação foram mantidos em câmara de crescimento à temperatura de 28 ± 2°C, sob iluminação artificial de 50 mmol.m⁻².s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas de luz, com exceção dos três primeiros dias a partir da inoculação e da repicagem, quando os ápices caulinares foram mantidos no escuro para evitar a oxidação. O controle da variação somaclonal e da oxidação, ocorridos durante os subcultivos, foi realizado por meio da eliminação de

tecidos contendo calos e necroses. Explantes contaminados foram descartados.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial (4 x 6), sendo quatro genótipos e seis concentrações de BAP. No subcultivo 0 (estabelecimento), foram utilizadas 25 repetições por tratamento (genótipo); nos subcultivos 1 a 3 todas as plântulas obtidas durante a multiplicação.

No final do terceiro subcultivo, todos os frascos foram amostrados e avaliados externamente, quanto ao número e tamanho dos brotos. A partir destes dados, foi realizada a análise de regressão polinomial para estudar o comportamento das taxas de multiplicação de cada genótipo em função da concentração de BAP utilizada no meio de cultura.

Avaliação do protocolo de multiplicação in vitro

Foi utilizada a mesma metodologia empregada na avaliação anterior, usando-se a concentração ótima de BAP determinada para cada genótipo.

O enraizamento realizou-se em meio MS, sem a adição de BAP, contendo metade da concentração de sais, pH 5,8 (ajustado antes da autoclavagem) e suplementado com 15 g L⁻¹ de sacarose e 7,0 g L⁻¹ de ágar. Esta fase teve três semanas de duração.

A aclimação, realizada após o enraizamento, constou da individualização e limpeza das plântulas em água corrente e o subsequente plantio em bandejas plásticas, contendo substrato Plantmax[®]. Em seguida, as plântulas foram mantidas em casa-de-vegetação coberta com sombrite, reduzindo-se a radiação plena em 70% e 50%, por períodos sucessivos de duas semanas em cada condição de sombreamento. Nesta fase, foram realizados exames visuais para detecção de possíveis plantas fora do padrão e do índice de perdas.

O delineamento experimental adotado nesta avaliação também foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (genótipos). O subcultivo 0 (zero) foi iniciado com dez ápices caulinares saudáveis de cada genótipo; os subcultivos 1 a 3, com todas as plântulas obtidas na multiplicação; e os subcultivos 4 e 5, com no máximo setenta explantes escolhidos ao acaso de cada genótipo.

Foram avaliadas as perdas por contaminação e oxidação, e as taxas de multiplicação absoluta (número de brotos obtidos por explante inicial em cada subcultivo de trinta dias) e acumulada (número total de brotos obtidos desde o estabelecimento até o subcultivo em estudo, por explante inicial). As taxas

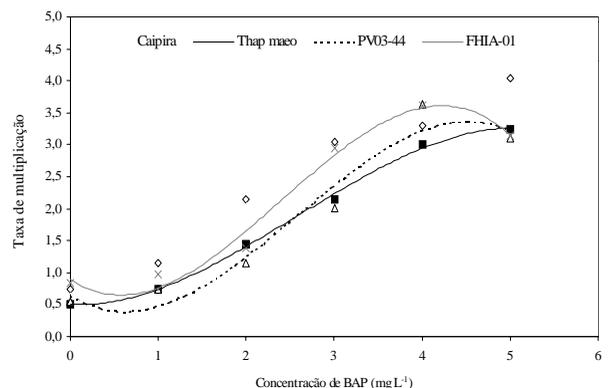
médias de contaminação, de multiplicação absoluta e de multiplicação acumulada ao longo dos subcultivos foram comparadas entre os genótipos pelo teste Tukey, em nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio da análise das curvas de regressão, estimadas (Figura 1), observa-se a influência do genótipo na taxa de multiplicação, evidenciando a necessidade de se determinar concentrações ótimas de BAP distintas para a introdução de novas cultivares ou híbridos no processo de multiplicação *in vitro*.

As concentrações de BAP no meio de cultura que resultaram em taxas máximas de multiplicação, no intervalo explorado pelo experimento [0; 5], foram: 5,0 mg L⁻¹; 5,0 mg L⁻¹; 4,5 mg L⁻¹ e 4,3 mg L⁻¹, respectivamente, para os genótipos Caipira, Thap maeo, PV03-44 e FHIA-01. O limite máximo de concentração de BAP de 5,0 mg mL⁻¹ foi estabelecido visando evitar variação somaclonal, conforme recomendado por Domingues *et al.* (1995).

Na prática, entretanto, as concentrações de BAP recomendadas foram 5,0 mg L⁻¹; 5,0 mg L⁻¹; 4,5 mg L⁻¹ e 4,0 mg L⁻¹, para Caipira, Thap maeo, PV03-44 e FHIA-01, respectivamente. A menor concentração de BAP no meio para multiplicação do genótipo FHIA-01 ocorreu porque também se considerou na escolha final da concentração ótima, o tamanho dos brotos produzidos (Figura 2).



$$\text{Caipira: } Y = 0,0195x^3 + 0,1233x^2 + 0,5293x + 0,6849 \quad (R^2 = 0,9842^{**})$$

$$\text{Thap maeo: } Y = -0,0454x^3 + 0,351x^2 - 0,0677x + 0,5050 \quad (R^2 = 0,9978^{**})$$

$$\text{PV03-44: } Y = -0,1x^3 + 0,7722x^2 - 0,8461x + 0,6500 \quad (R^2 = 0,9819^{**})$$

$$\text{FHIA-01: } Y = -0,1213x^3 + 0,8726x^2 - 0,8781x + 0,8902 \quad (R^2 = 0,9819^{**})$$

Figura 1. Curvas de regressão para a taxa de multiplicação *in vitro* dos genótipos Caipira, Thap maeo, PV03-44 e FHIA-01 em função da concentração de BAP, no terceiro subcultivo (**: viores significativos a 1% de probabilidade pelo teste F).

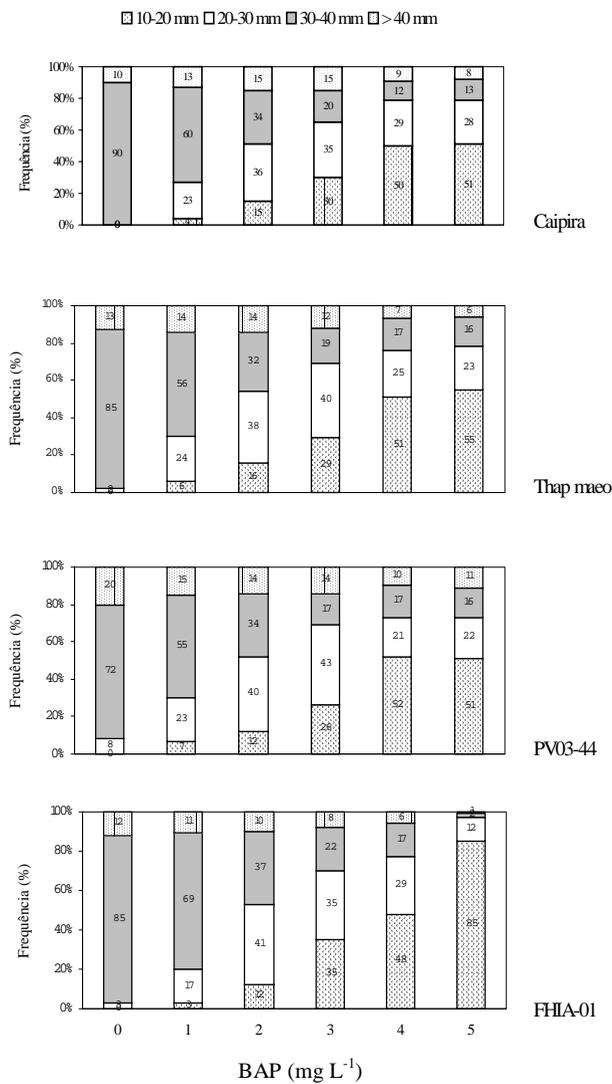


Figura 2. Distribuição de frequência de classes de tamanho de brotos dos genótipos Caipira, Thap maeo, PV03-44 e FHIA-01 de banana, no terceiro subcultivo, em função de diferentes concentrações de BAP.

O tamanho dos brotos foi considerado porque brotos com tamanho reduzido dificultam sua individualização durante a repicagem e consomem mais tempo para seu alongamento durante a fase de enraizamento. Em geral, observou-se que o tamanho do broto é inversamente proporcional à concentração de BAP no meio de cultura (Figura 2). Essa resposta mostrou-se mais evidente em FHIA-01, ratificando as observações feitas por Oliveira *et al.* (2001). Esses autores estimaram a concentração ótima de BAP de 4,9 mg mL⁻¹ para o genótipo, porém, recomendaram 4,0 mg mL⁻¹ para permitir maior alongamento dos brotos.

Em diversas espécies foi observado que a exposição de explantes a alta concentração de BAP pode levar ao acúmulo de citocinina, o que inibe o

crescimento da parte aérea (Malik *et al.* (2005). Segundo Lane (1979), o efeito inibitório no crescimento é caracterizado pelo entufamento e ausência de alongamento, encurtamento dos entrenós e engrossamento exagerado dos caules. Resultado semelhante foi observado por Araújo *et al.* (2004), que constataram resposta linear decrescente na altura de explantes de gloxínia com o aumento dos níveis de BAP.

Os resultados obtidos no experimento de avaliação do protocolo mostram que a taxa de multiplicação absoluta dos genótipos estudados variou de 2,50 a 4,25 ao longo dos cinco subcultivos (Tabela 1). 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 de quatro a cinco semanas.

Houve tendência de redução na taxa de multiplicação absoluta a partir do quarto subcultivo, em praticamente todos os genótipos (Tabela 1). Esses resultados concordam com os obtidos por Banerjee & De Langhe (1985), que observaram menores taxas de multiplicação entre o terceiro e o sexto subcultivo. Provavelmente, este fato deve-se ao acúmulo de BAP no explante, cujo excesso inibe a multiplicação. Uma das maneiras de tentar maximizar a produção de brotos seria alternar concentrações altas e baixas de BAP no meio de cultura, nos diferentes subcultivos.

Avaliando-se a taxa média de multiplicação absoluta observa-se que não houve diferença entre os genótipos (Tabela 1). Todavia, estes resultados são superiores aos encontrados por Braga *et al.* (2001), para Caipira, que teve média de 2,58, e por Oliveira *et al.* (2001), para FHIA-01, com média de 2,44.

Tabela 1. Taxa de multiplicação absoluta e acumulada (entre parênteses) por explante inicial, para os genótipos Caipira, Thap maeo, PV03-44 e FHIA-01 de banana, ao longo dos subcultivos¹

Subcultivo	Caipira	Thap maeo	PV03-44	FHIA-01
0	3,25 (3,25 a) ²	2,85 (2,85 b)	2,86 (2,86 b)	2,75 (2,75 b)
1 ^o	3,60 (11,70 a)	3,12 (8,89 c)	3,45 (9,87 b)	3,12 (8,58 c)
2 ^o	4,25 (49,73 a)	3,46 (30,77 b)	3,73 (36,80 b)	3,25 (27,85 c)
3 ^o	3,95 (196,41 a)	3,35 (103,07 b)	3,53 (129,92 b)	3,39 (94,53 b)
4 ^o	3,85 (756,19 a)	3,15 (324,66 c)	3,46 (449,52 b)	3,36 (317,62 c)
5 ^o	3,13 (2366,88 a)	3,13 (1016,19 b)	2,50 (1123,79 b)	3,24 (1029,09 b)
média	3,67 a	3,18 a	3,26 a	3,19 a

¹ - As concentrações de BAP no meio de cultura foram de 5,0 mg L⁻¹, 5,0 mg L⁻¹, 4,5 mg L⁻¹ e 4,0 mg L⁻¹, para as cultivares Caipira, Thap maeo, PV03-44 e FHIA-01, respectivamente.

² - Médias seguidas por mesma letra, na linha, não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

Além disso, o genótipo Caipira apresentou rendimento (taxa de multiplicação estimada acumulada) pelo menos duas vezes superior aos demais genótipos no quinto subcultivo (Tabela 1). Resultado este muito interessante, já que se trata de um genótipo resistente às principais doenças que atacam a bananeira.

A distribuição da frequência dos brotos formados nos quatro genótipos em função do tamanho e dos subcultivos mostra que a classe de tamanho mais freqüente foi a de 10 mm a 20 mm, independente do subcultivo e genótipo (Figura 3). Ao mesmo tempo, observou-se uma tendência geral de aumento do tamanho dos brotos dos explantes ao longo dos subcultivos para todos genótipos. O genótipo Caipira também apresentou um maior alongamento dos brotos quando comparado aos demais.

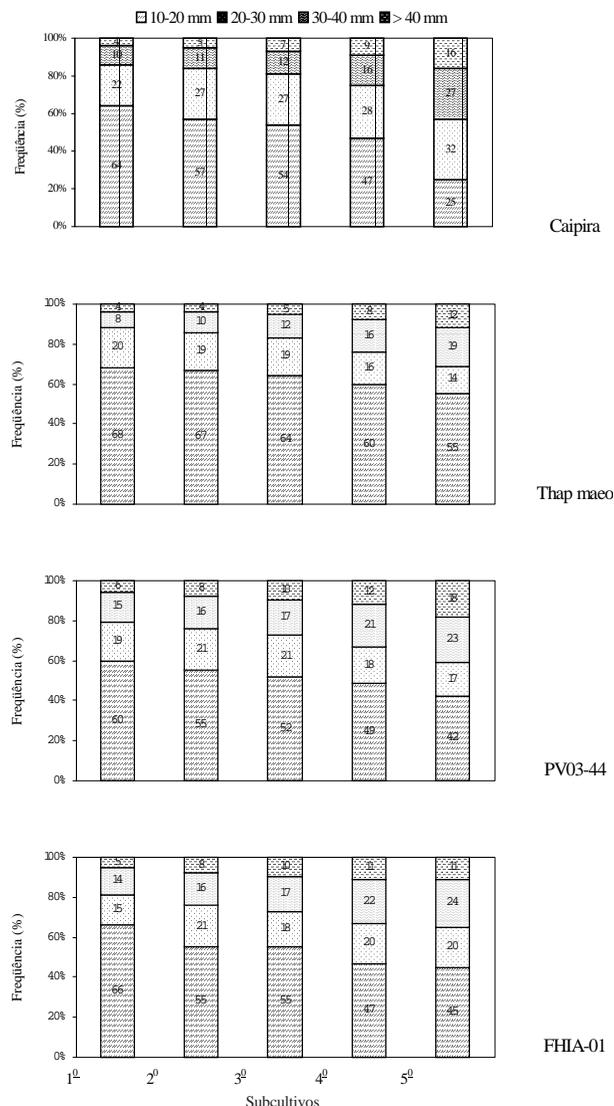


Figura 3. Distribuição de freqüência de classes de tamanho de brotos dos genótipos Caipira, Thap maeo, PV03-44 e FHIA-01, em função dos diferentes subcultivos.

Durante os subcultivos observou-se formação de raízes nos explantes. Segundo Oliveira & Silva (1997), o enraizamento não é benéfico pois consome reserva que poderia ser utilizada para a produção de brotos. Este fato, porém, não constitui um problema importante para os genótipos estudados.

A supressão de BAP e a redução dos nutrientes e da sacarose à metade no meio MS foram suficientes para promover enraizamento satisfatório e alongamento das plântulas em todos os genótipos. Segundo Debergh (1988), a redução da concentração de sacarose facilita a passagem das plantas para o estado autotrófico durante o plantio.

A classe de tamanho da plântula enraizada mais freqüente foi de 30 mm a 60 mm (Figura 4), correspondente ao dobro do tamanho da classe mais freqüente durante a multiplicação (10 mm a 20 mm) (Figura 3). Assim, não foi observado estiolamento entre os genótipos estudados (Figura 4). Esse resultado concorda com os obtidos por Sá & Braga (2002) para bananeira Prata-Anã. Provavelmente, o enraizamento contribuiu para a absorção mais eficiente de nutrientes, resultando em maior crescimento nessa fase. O genótipo PV03-44 atingiu maior alongamento ao final da fase de enraizamento (Figura 4).

Apesar do genótipo Caipira ter mostrado um rendimento superior aos demais genótipos, apresentou uma elevada taxa de contaminação bacteriana na fase de estabelecimento, em média de 70% (Tabela 2). Nos outros genótipos, a contaminação por bactérias não excedeu a 6%.

A maior taxa de contaminação ocorreu no estabelecimento (subcultivo 0), tendendo a se reduzir ao longo dos subcultivos (Tabela 2). Alta contaminação com bactérias na fase de estabelecimento do genótipo Caipira foi também observada por Braga *et al.* (2001). Esses autores registraram a ocorrência

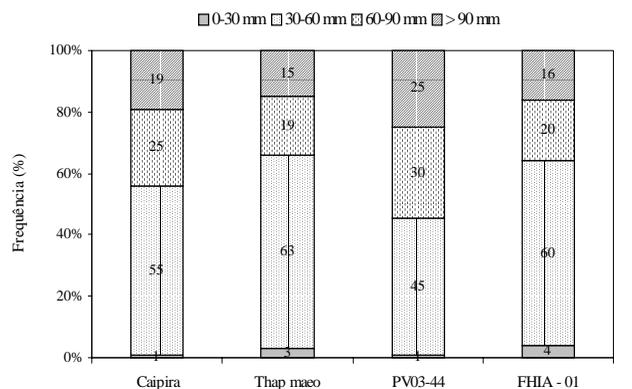


Figura 4. Distribuição de freqüência de classes de tamanho de plântulas dos genótipos Caipira, Thap maeo, PV03-44, FHIA-01, após o enraizamento.

Tabela 2. Taxa de contaminação (%) dos explantes dos genótipos Caipira, Thap maeo, PV03-44 e FHIA-01 de bananeira, em função dos genótipos, ao longo dos subcultivos¹

Subcultivo	Caipira	Thap maeo	PV03-4
0	70,00 A a ¹	5,00 A bc	4,00 A
1°	23,55 B a	3,55 B b	2,71 B
2°	18,56 C a	2,73 BC b	2,42 B
3°	10,73 D a	2,14 C b	1,54 B
4°	8,30 E a	1,80 C b	1,52 B
5°	5,22 F a	0,54 D c	1,74 B

¹- Médias seguidas por mesma letra maiúscula, na coluna, e por mesma letra minúscula, na linha, não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

de *Pseudomonas maltophilia*, *Bacillus* sp., *Klebseilla pneumonia* e *Hafnia alvei*. Esse tipo de problema pode inviabilizar a produção comercial de mudas desse genótipo. Apenas o uso das técnicas convencionais de assepsia não foi, portanto, suficiente para evitar tais contaminações, sendo necessário formular novas medidas para a sua prevenção e controle. O tratamento prévio das matrizes no campo e dos ápices caulinares isolados no laboratório com antibióticos e a introdução de antibióticos no meio de cultura compreendem algumas destas medidas.

Conforme advertem Lee *et al.* (1995), no presente estudo verificou-se grande risco de contaminação de explantes sadios após a manipulação de explantes contaminados. Isso deve-se à difícil detecção do crescimento de bactérias de coloração esbranquiçada no meio cultura. Os autores acrescentam que a manipulação diária de um grande número de frascos com plântulas em um sistema de produção comercial favorece essa contaminação, causando grandes perdas em pouco tempo e em qualquer fase do processo.

As contaminações causadas por fungos ocorreram em níveis baixos comparadas às causadas por bactérias. Em geral, não excederam 3,5%, independentemente do genótipo, e se manifestaram com maior frequência na fase de estabelecimento e no primeiro subcultivo.

Um problema frequentemente observado no cultivo *in vitro* foi o escurecimento dos tecidos lesados dos explantes. Segundo George & Sherrington (1984) e Carneiro (1997), este fenômeno é causado pela oxidação de compostos polifenólicos que influenciam negativamente o crescimento e a taxa

de multiplicação dos explantes. Neste estudo, a oxidação dos explantes mostrou-se mais freqüente na fase de estabelecimento, no primeiro subcultivo e nas fases iniciais de cada subcultivo, não comprometendo a multiplicação dos genótipos. Dentre os genótipos, Thap maeo apresentou a maior taxa média de perda por oxidação (3%). Em geral, essas perdas puderam ser evitadas mantendo-se os explantes por 72 horas no escuro durante a fase de estabelecimento e logo após a repicagem.

Na aclimação, as perdas de plântulas foram muito baixas (2,2%). Entretanto, alguns ajustes no sistema de irrigação e luminosidade na casa-de-vegetação foram realizados para reduzir tais perdas. Nesta fase, as plantas micropropagadas foram avaliadas visualmente quanto ao fenótipo, não ocorrendo, portanto, a presença de variantes soma-clonais do tipo anão ou variegado. Alguns indivíduos (0,8%) apresentaram anomalias morfológicas que foram interpretadas como variantes somaclonais, sendo, por isso, eliminados. Segundo Israeli *et al.* (1991), o uso de até seis subcultivos para micropropagação de bananeira resulta em taxas percentuais de variantes somaclonais que não ultrapassam 5%.

CONCLUSÕES

1. A concentração ótima de BAP e a taxa de multiplicação variam entre os genótipos estudados.
2. As taxas de contaminação mais elevadas são de origem bacteriana. A fase mais suscetível desse tipo de contaminação é o estabelecimento *in vitro*, com tendência de redução à medida que vão sendo realizados os subcultivos.
3. Com exceção do genótipo Caipira, que apresenta alta taxa de contaminação por bactérias durante o estabelecimento *in vitro*, os outros genótipos não apresentam problemas que dificultem a multiplicação comercial mediante o protocolo pré-estabelecido.

REFERÊNCIAS

- Araújo, A. G., C. V. A. Fiorini, M. Pasqual, A. B. da Silva & F. Villa. 2004. Multiplicação *in vitro* de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.). Revista Ceres, 51 (293): 117-127.
- Assis, M. de, M. Paiva & O. C. Aramani. 2000. Micropropagação de plantas: histórico de uma empresa comercial. Informe Agropecuário, 21 (204): 124-126.

- Banerjee, N. & E. De Langhe. 1985. 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.
- Braga, M. F., M. E. L. de Sá & P. C. Mustafá. 2001. Avaliação de um protocolo para multiplicação *in vitro* da bananeira (*Musa* sp.) cv. Caipira (AAA). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23 (2): 215-219.
- Carneiro, I. F. 1997. Adequação de técnicas de cultura *in vitro* para obtenção de mudas de bananeira (*Musa* sp.) cultivar Maçã. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, Goiás. 106 p.
- Damasco, O. P., I. D. Godwin, M. K. Smith & S. W. Adkins. 1996. Gibberellic acid detection of dwarf off-types in micropropagated Cavendish bananas. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 36 (2): 237-241.
- Debergh, P. C. 1988. Control of *in vitro* plant propagation. p. 45-48. In Simpósio Internacional de Biotecnologia de Plantas, 1. CEBTEC-FEALQ-USP, Piracicaba, São Paulo. 495 p. Anais.
- Declerck, S., J. M. Risede & B. Delvaux. 2002. Greenhouse response of micropropagated bananas inoculated with *in vitro* monoxenically produced arbuscular mycorrhizal fungi. *Scientia Horticulturae*, 93 (3-4): 301-309.
- Domingues, E. T., A. Tulmann Neto & B. M. J. Mendes. 1995. Cultura de ápices caulinares de *Musa* sp., var. Maçã: estabelecimento, micropropagação e enraizamento *in vitro*. *Scientia Agrícola*, 52 (2): 387-394.
- George, E. F. & P. D. Sherrington. 1984. Plant propagation by tissue culture. Hants: Energetics Limited, 709 p.
- Israeli, Y., O. Reuveni & E. Lahav. 1991. Qualitative aspects of somaclonal variations in banana propagated by *in vitro* techniques. *Scientia Horticulturae*, 48 (1-2): 71-77.
- Lane, W. D. 1979. Regeneration of pear plants from shoot meristems-tips. *Plant Science Letters*, 16 (3): 337-342.
- Lee, T. S. G, L. T. Picollo, S. P. Meneghin & S. M. S. S. Araujo. 1995. Biofábrica: produção industrial de plantas *in vitro*. p. 9-17. In T. S. G. Lee (Ed.). Biofábrica: produção industrial de plantas *in vitro*. Universidade Federal de São Carlos, Araras.
- Lemos, E. E. P., M. de S. Ferreira, L. M. C. de Alencar, J. G. L. Oliveira & V. S. Magalhães. 2001. Micropropagação de clones de banana cv. Terra em biorreator de imersão temporária. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23 (3): 482-487.
- Malik, S. K., R. Chaudhury & R. K. Kalia. 2005. Rapid *in vitro* multiplication and conservation of *Garcinia indica*: A tropical medicinal tree species. *Scientia Horticulturae*, 106 (4): 539-553.
- Murashige, T. & F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15 (3): 473-497.
- Oliveira, R. P. de & S. O. Silva. 1997. Micropopagação massal de bananeira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 32 (4): 415-420.
- Oliveira, R. P. De, D. G. Silveira & S. O. Silva. 2001. Concentração de BAP e a eficiência de micropopagação de bananeira tetraploíde (Grupo AAAB). *Scientia Agrícola*, 58 (1): 73-78.
- Sá, M. E. L. de & M. F. Braga. 2002. Avaliação de um protocolo para obtenção de mudas micropopagadas de bananeira (*Musa* sp.) cv. Prata-Anã (Subgrupo AAB). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24 (1): 236-239.
- Sági, L., G. D. May, S. Remy & R. Swennen. 1998. Recent developments in biotechnological research on bananas (*Musa* spp.). *Biotech. Genet. Engineer. Rev.*, 15: 313-327.
- Vasil, I. 1994. Automation in plant propagation. *Plant, Tissue and Organ Culture*, 39 (2): 105-109.
- Vuylsteke, D. E. & E. De Langhe, 1985. Feasibility of *in vitro* propagation of bananas and plantains. *Tropical Agriculture*, 62 (4): 323-328.
- Vuylsteke, D. & R. Ortiz. 1996. Field performance of conventional vs. *in vitro* propagules of plantain (*Musa* spp., AAB group). *HortScience*, 31 (5): 862-865.
- Wong, W. C. 1986. *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.
- Torres, J. B., C. S. A. Silva-Torres, M. R. Silva & J. F. Ferreira. 2002. Compatibilidade de inseticidas e acaricidas com o percevejo predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) em algodoeiro. *Neotropical Entomology*, 31 (2): 311-317.