

# QUEBRA DA DOMINÂNCIA APICAL, POR PROCESSOS FÍSICOS, EM CULTIVO *IN VITRO* DE BANANEIRA-MAÇÃ<sup>1</sup>

Iraídes Fernandes Carneiro<sup>2</sup>, Lincoln Fonseca Zica<sup>2</sup> e Lázaro José Chaves<sup>2</sup>

## ABSTRACT

### APICAL DOMINANCE BRAKE BY PHYSICAL PROCESSES ON BANANA *IN VITRO* CULTURE

Several physical processes were evaluated for apical dominance brake of banana (*Musa* AAB cv. Maçã) initial explants. The treatments were: 1. whole explant subculture; 2. explants divided in two; 3. explants divided in four parts; and 4. explants superficially cut three times (star), rhizome base maintained intact. MS media were supplemented with  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (170 mg L<sup>-1</sup>), adenine (40 mg L<sup>-1</sup>), BAP (1,5 mg L<sup>-1</sup>) e Kin (3,5 mg L<sup>-1</sup>). After 80 days, explants originated from these treatments were subcultured in modified MS media, similar to the first, except for growth regulators BAP (2,3 mg L<sup>-1</sup>) e AIA (0,18 mg L<sup>-1</sup>). All treatments produced a linear increase on shoot number during the first 80 days, although losses due to oxidation and/or contamination were higher when initial explants were divided in two and four parts. Shoot production at 80 days showed no significant differences among treatments, while after six subcultures (164 days), explants divided in two parts produced more shoots. All treatments showed a decreasing tendency for multiplication rate.

KEY WORDS: Tissue culture, micropropagation, *Musa* AAB.

## RESUMO

Diversos processos físicos para a quebra da dominância apical em explantes iniciais de bananeira (*Musa* AAB cv. Maçã) foram avaliados. Os tratamentos constaram de: 1. explantes subcultivados inteiros; 2. explantes divididos ao meio; 3. explantes divididos em quatro partes; e 4. explantes com três cortes superficiais (estrela), mantendo-se a base do rizoma intacta. O meio utilizado foi o MS suplementado com  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (170 mg L<sup>-1</sup>), adenina (40 mg L<sup>-1</sup>), BAP (1,5 mg L<sup>-1</sup>) e Kin (3,5 mg L<sup>-1</sup>). Após 80 dias, os explantes originados destes tratamentos foram subcultivados para meio MS modificado, semelhante ao anterior, com exceção dos fitorreguladores que foram: BAP (2,3 mg L<sup>-1</sup>) e AIA (0,18 mg L<sup>-1</sup>). Durante os primeiros oitenta dias de cultivo, observou-se um aumento linear do número de brotos para todos os tratamentos, embora maiores perdas por oxidação e/ou contaminação tenham ocorrido para os tratamentos em que houve a divisão do explante inicial em duas e quatro partes. Não houve diferença entre os tratamentos, aos 80 dias, em relação à produção de brotos; entretanto, maior número foi obtido no sexto subcultivo (aos 164 dias) a partir de explantes iniciais divididos ao meio. A taxa de multiplicação teve uma tendência de redução até o sexto subcultivo, para todos os tratamentos.

PALAVRAS-CHAVE: Cultura de tecidos, micropropagação, *Musa* AAB.

## INTRODUÇÃO

Os clones de bananeiras são formados a partir de mudas obtidas de rizomas ou caules subterrâneos, pelo desenvolvimento de gemas preexistentes. Este método, tradicionalmente empregado, é seriamente limitado pela sua baixa taxa de multiplicação, de 5 a 10 mudas por ano (Athaide 1994). Vários

pesquisadores têm utilizado a técnica de cortes transversais na coroa do rizoma para estimular o desenvolvimento das gemas axilares e adventícias e, conseqüentemente, aumentar a taxa de multiplicação (Barker 1959, Langhe 1961, Hamilton 1965). Mais recentemente, a técnica da micropropagação vem sendo empregada com esse mesmo objetivo, além da obtenção de mudas sadias.

1. Parte da Tese de Doutorado em Agronomia da 1.<sup>a</sup> autora, realizado na Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. Entregue para publicação em novembro de 1999.

2. Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, Caixa Postal 131, CEP 74001-970, Goiânia-GO.

Em bananeira, a micropropagação se dá, principalmente, através da proliferação de gemas axilares, embora possa ocorrer a formação de gemas adventícias, a partir do calo. Em ambos os casos, o estímulo à produção de novas gemas ocorre pela quebra da dominância apical e/ou aplicação de citocinina exógena (Grattapaglia & Machado 1990).

A formação de gemas axilares é interessante pelo fato de ocorrer naturalmente nas inserções das folhas. Estas são estimuladas a crescer, dando origem a novas partes aéreas que, por sua vez, repetem o mesmo processo. Tufos de partes aéreas são assim formados, os quais são subdivididos em conjuntos menores, ou seja, cada parte aérea é isolada das demais para a formação dos novos explantes (Grattapaglia & Machado 1990).

Alguns tratamentos são utilizados em bananeira cultivada *in vitro*, seja na fase de iniciação ou estabelecimento da cultura, pela remoção da dinâmica apical (Ma & Shii 1972, Vessey & Rivera 1981, Wong 1986), seja na fase de multiplicação, pela divisão do explante em duas partes (Cronauer & Krikorian 1984a, 1984b, Jarret *et al.* 1985), em quatro partes (Damasco & Barba 1984) ou por uma série de cortes feita apenas no ápice, mantendo-se a base do rizoma intacta (Vessey & Rivera 1981, Jarret *et al.* 1985, Gupta 1986).

Neste trabalho, foram estudados diversos processos físicos sobre a quebra da dominância apical em explantes de bananeira-maçã, cultivada *in vitro*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Explantes provenientes de mudas de banana-maçã, do tipo chifrinho, obtidas em bananal no município de Monte Alegre, (GO), foram estabelecidos em meio MS (Murashige & Skoog 1962) suplementado com  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  ( $170 \text{ mg L}^{-1}$ ), adenina ( $40 \text{ mg L}^{-1}$ ), BAP (6-benzilaminopurina) ( $0,7 \text{ mg L}^{-1}$ ), Kin (cinetina) ( $0,7 \text{ mg L}^{-1}$ ) e ácido ascórbico ( $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ ). O pH foi ajustado para 5,8 com NaOH 0,1N e solidificado com 0,7% de ágar. Utilizaram-se 10 ml de meio em cada tubo de ensaio.

Os explantes, após receberem os tratamentos para quebra da dominância apical, foram transferidos para frascos com capacidade de 250 ml, contendo, cada frasco, 40 ml do meio de multiplicação, previamente autoclavado a  $121^\circ\text{C}$ , durante 20 minutos. Durante a fase de transferência, cada explante passou por uma limpeza, retirando-se as folhas e porções oxidadas do rizoma.

O delineamento experimental utilizado foi

inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e dez repetições. Os tratamentos foram os seguintes: 1) explante sem cortes; 2) explante dividido em duas partes; 3) explante dividido em quatro partes; 4) explante cortado superficialmente em seis partes. Cada repetição constou de um frasco contendo o explante sem cortes ou as partes seccionadas, conforme o tratamento. Foram utilizados explantes que se apresentavam com bom aspecto nutricional e sanitário, com altura aproximada de 2 cm.

O meio utilizado na fase de multiplicação foi o MS, suplementado com  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  ( $170 \text{ mg L}^{-1}$ ), adenina ( $40 \text{ mg L}^{-1}$ ), BAP ( $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ ), Kin ( $3,5 \text{ mg L}^{-1}$ ) e ácido ascórbico ( $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ ). O pH foi ajustado para 5,8 com NaOH 0,1N, antes da autoclavagem, e o meio foi solidificado com 0,7% de ágar.

A cada 28 dias os explantes foram subcultivados para meio de multiplicação. À medida que sofriam contaminações e/ou oxidação, eles eram retirados e eliminados. Aos 20, 60 e 80 dias foram feitas contagens do número de explantes/frasco.

Os dados coletados foram analisados estatisticamente pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis e pela análise de regressão. As médias foram comparadas pelo teste de Bonferroni.

Os explantes originados dos tratamentos anteriores foram subcultivados, por três vezes consecutivas, a cada 28 dias, em meio de cultura contendo os sais de MS +  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  de mio-inositol,  $170 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $40 \text{ mg L}^{-1}$  de adenina,  $2,3 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP e  $0,18 \text{ mg L}^{-1}$  de AIA. O pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem, com NaOH 0,1N. O meio foi solidificado com ágar a 0,7% e autoclavado a  $121^\circ\text{C}$  durante 20 minutos.

Em câmara de fluxo laminar, procedeu-se à divisão dos explantes brotados em porções de aproximadamente  $1 \text{ cm}^3$ , contendo uma ou mais gemas. Ao mesmo tempo eram retiradas, com auxílio de lâminas de bisturi, porções escurecidas ou oxidadas, folhas e pseudocaulis em formação. Brotos mais desenvolvidos, com alturas superiores a 2 cm e com a base rizomatosa bem desenvolvida, eram divididos ao meio. Quatro a cinco pedaços, logo em seguida, eram distribuídos e plantados em frascos de 250 ml, contendo 40 ml do meio de cultura. A seguir, eram transferidos para câmaras de crescimento, nas mesmas condições citadas anteriormente.

A cada 28 dias, contava-se o número de gemas e/ou brotações surgidas e, diariamente, procedia-se à retirada dos frascos contaminados e/ou oxidados. Foram feitas a análise de regressão para o número

de brotações obtidas e a comparação pelo teste de  $c^2$  para os dados relativos à contaminação e/ou oxidação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados estão apresentados nas Tabelas de 1 a 4 e nas Figuras de 1 a 5. Verificou-se que o número de brotações obtidas foi estatisticamente diferente aos 20 dias de cultivo, obtendo-se melhores resultados para os tratamentos 2 e 3 (explantes divididos ao meio e explantes divididos em quatro partes, respectivamente). Entretanto, aos 60 e 80 dias após a realização dos tratamentos, o número de brotações surgidas foi semelhante para todos os tratamentos.

Observou-se também que, inicialmente, o surgimento de novas brotações foi pequeno, aumentando progressivamente com o tempo de cultivo. A produção de brotos cresceu linearmente para os tratamentos 1 e 2, entretanto mostrou um efeito quadrático para os tratamentos 3 e 4 (Figuras 1 a 4). A pequena produção de brotos nos primeiros dias de cultivo indica que a bananeira-maçã, quando cultivada *in vitro*, necessita de um tempo maior para se recuperar do estresse fisiológico sofrido, para, em seguida, receber o estímulo e produzir rapidamente novas brotações. Isto foi observado, principalmente, naqueles tratamentos em que o explante inicial sofreu danos físicos ou cortes para quebra da dominância apical. A explicação mais plausível é a redução das suas reservas, necessárias para suprir a demanda de metabólitos no processo de diferenciação e brotação das gemas laterais, além de aumentar a superfície de tecidos oxidados, o que diminui a capacidade de absorção de nutrientes, vitaminas e hormônios pelos tecidos (Zaffari *et al.* 1994).

A permanência da gema inteira resultou em menor número médio de brotações/frasco, embora não tenha apresentado diferença significativa. Este fato

também foi observado também por Ma & Shii (1972), Damasco & Barba (1984), Gupta (1986) e Zaffari *et al.* (1994). Para aqueles tratamentos em que o rizoma sofreu cortes ao meio ou em quatro partes, a morte de explantes foi maior (Tabela 2), tendo apresentado diferença significativa apenas aos 60 dias. Tal fato se explica pela oxidação das regiões cortadas, impedindo ou reduzindo a absorção de água e nutrientes, sendo observado também nas cultivares Saba e Pelipita (Jarret *et al.*, 1985).

A ocorrência de contaminação dos explantes por fungos e/ou bactérias, além de oxidação, provocou a perda dos mesmos (Tabela 2). O teste de qui-quadrado mostrou diferença significativa apenas aos 60 dias. A manipulação dos explantes a cada 20-30 dias, com transferência para meio fresco, expunha os mesmos às condições de baixa assepsia do meio ambiente, apesar de se trabalhar em câmaras de fluxo laminar, além de bactérias endógenas terem se desenvolvido, mesmo após o crescimento do explante.

A utilização de explantes de maior tamanho, como ocorreu no presente trabalho, traz como conseqüências um alto índice de contaminação na fase de estabelecimento, podendo se prolongar até a fase de multiplicação. Isto se dá pela descontaminação apenas superficial do bloco (rizoma, primórdios foliares e meristema) quando do tratamento com hipoclorito de sódio. Vuylsteke & Langhe (1985) recomendam trabalhar com meristemas de, no máximo, 2mm, a fim de eliminar patógenos, enquanto Cronauer & Krikorian (1984a) ainda sugerem a utilização de meristemas oriundos de plantas obtidas *in vitro* e cultivadas em casa de vegetação, o que vai afetar o índice de aproveitamento dos explantes e a velocidade de multiplicação. Apesar da obtenção de explantes praticamente livres de patógenos, quando se trabalha com meristemas diminutos, as brotações formadas são simples, ou seja, uma brotação/explante. A produção de brotações múltiplas ocorre quando se trabalha com explantes maiores (Swamy *et al.* 1983).

Tabela 1. Efeito de tratamentos físicos para a quebra da dominância apical sobre o número de brotações de bananeira (*Musa* AAB cv. Maçã), cultivada *in vitro*.

Tratamentos	Número de brotações		
	Aos 20 dias	Aos 60 dias	Aos 80 dias
1. Explante sem cortes	2,50 b <sup>1</sup>	10,50a	13,83a
2. Explante dividido em duas partes	3,00ab	12,20a	15,00a
3. Explante dividido em quatro partes	5,10a	10,33a	24,00a
4. Explante cortado superficialmente em seis partes	1,00 b	10,00a	15,50a

1- Significância ao nível de 1% de probabilidades, pelo teste de Kruskal-Wallis. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente

Tabela 2. Número de explantes que sobreviveram após tratamentos físicos para quebra da dominância apical em bananeira (*Musa* AAB cv. Maçã).

Tratamentos	Número de brotos					
	Aos 20 dias		Aos 60 dias		Aos 80 dias	
	vivos	mortos	vivos	mortos	vivos	mortos
1. Explante sem cortes	10	00	06	04ab <sup>1</sup>	06	04a
2. Explante dividido ao meio	11	00	05	06 b	05	06a
3. Explante dividido em quatro partes	10	00	03	07 b	01	09a
4. Explante cortado superficialmente em seis partes	10	00	09	01a	06	04a
	$\chi^2 = 8,000^*$			$\chi^2 = 6,782$		

1. Significância ao nível de 5% de probabilidades, pelo teste de qui-quadrado (c<sup>2</sup>). Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidades, pelo teste de c<sup>2</sup>.

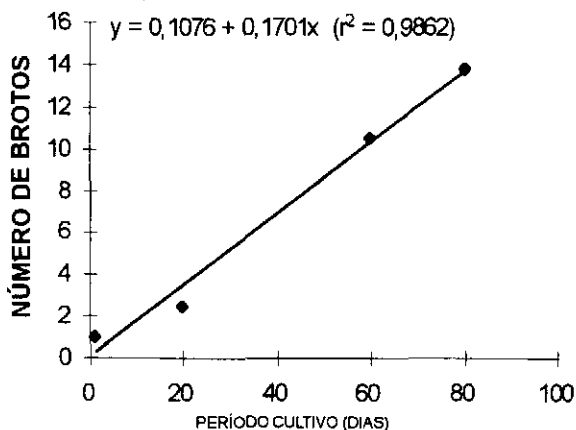


Figura 1. Produção de brotos em explantes de bananeira (*Musa* AAB cv. Maçã), a partir de explantes sem cortes, cultivados em meio MS modificado e suplementado com 1,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 3,5 mg L<sup>-1</sup> de Kin.

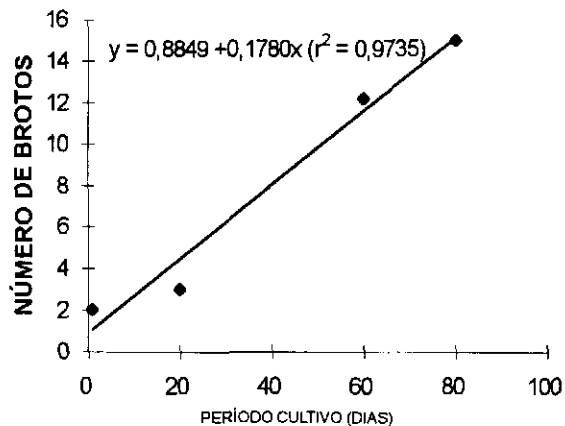


Figura 2. Produção de brotos em explantes de bananeira (*Musa* AAB cv. Maçã), a partir de explantes divididos em duas partes, cultivados em meio MS modificado e suplementado com 1,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 3,5 mg L<sup>-1</sup> de Kin.

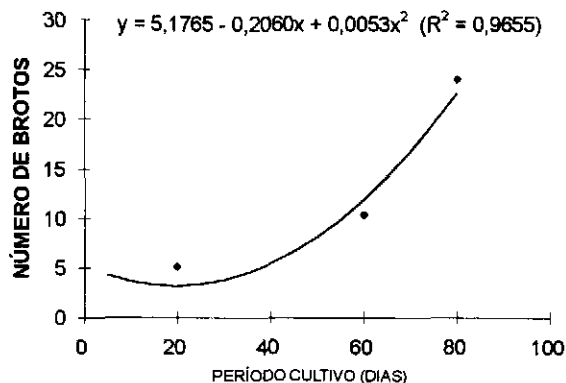


Figura 3. Produção de brotos de bananeira (*Musa* AAB cv. Maçã), a partir de explantes divididos em quatro partes, cultivados em meio MS modificado, suplementado com 1,5 mg L<sup>-1</sup> e 3,5 mg L<sup>-1</sup> de Kin.

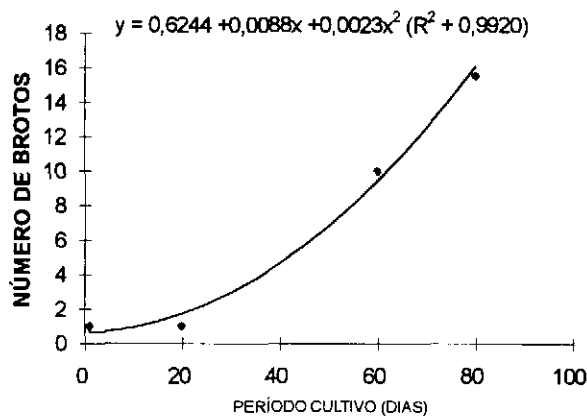


Figura 4. Produção de brotos de bananeira (*Musa* AAB cv. Maçã), a partir de explantes cortados superficialmente em seis partes, cultivados em meio MS modificado e suplementado com 1,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 3,5 mg L<sup>-1</sup> de Kin.

A adição de citocininas é de fundamental importância para estimular o desenvolvimento das gemas axilares e adventícias, em explantes de uma série de cultivares de bananeira (Wong 1986, Swamy *et al.* 1983). Foram utilizadas citocininas, adicionadas ao meio de cultivo (1,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 3,5 mg L<sup>-1</sup> de Kin), o que pode ter influenciado na quebra da dominância apical dos explantes de bananeira-maçã, fazendo com que os tratamentos físicos não apresentassem diferenças estatísticas, aos 60 e 80 dias de cultivo *in vitro*.

A quebra da dominância apical mediante tratamentos físicos (divisão longitudinal em duas ou quatro partes e cortes superficiais, mantendo-se a base do rizoma inteira) não teve influência na proliferação de brotos aos 60 e 80 dias após a realização dos tratamentos, entretanto a perda de explantes foi maior. O tratamento em que se fez a divisão do explante em quatro partes foi o que provocou maiores perdas (90%).

A taxa de multiplicação obtida aos 60 dias foi maior do que aos 20 dias (Tabela 3), para os tratamentos 2 e 4, o que a necessidade de um certo tempo para que o explante se recupere do estresse fisiológico e inicie a fase de multiplicação. No tratamento 4, um índice maior de proliferação de brotos foi obtido, aos 60 dias, pelos diversos cortes

superficiais realizados no explante. Entretanto, para os tratamentos 1, 2 e 4, a taxa de multiplicação decresceu no terceiro subcultivo.

Na Tabela 4 observa-se uma redução na taxa de multiplicação para todos os tratamentos originais, fato este que pode ser devido à alta taxa de contaminação e/ou oxidação ocorrida durante a condução do experimento. De modo geral, o índice de proliferação ou taxa de multiplicação pode ser considerado baixo, do quarto ao sexto subcultivos, pois os resultados obtidos ficaram abaixo de 2,0, diferentemente do que ocorre com outras cultivares já estudadas. Banerjee & Langhe (1985) e Vuylsteke & Langhe (1985) afirmam que cultivares que possuem um ou dois genomas B apresentam alta taxa de proliferação e que maiores taxas de multiplicação ocorrem entre o terceiro e sexto subcultivos. Jarret *et al.* (1985) obtiveram uma taxa de multiplicação de 16 ± 0,6 brotações por cultivo para a cultivar Saba (BBB), a qual foi aumentada para 22, quando da adição de 5 mg L<sup>-1</sup> de BAP.

Constata-se que o número de brotos obtidos no sexto subcultivo foi maior quando o explante inicial foi cortado ao meio, produzindo 3,9 vezes mais que o tratamento 3 (explante inicial dividido em quatro partes) (Tabela 4).

Tabela 3. Taxas de multiplicação de bananeira (*Musa* AAB cv. Maçã) cultivada *in vitro* após tratamentos físicos para quebra da dominância apical na fase inicial do estabelecimento.

Tratamentos	N.º de explantes originais	Aos 20 dias	Aos 60 dias	Aos 80 dias
1. Explante sem cortes	1	2,50	2,10	1,31
2. Explante dividido ao meio	2	1,50	2,03	1,22
3. Explante dividido em quatro partes	4	1,27	1,01	2,32
4. Explante cortado superficialmente em seis partes	1	1,00	5,00	1,55

Tabela 4. Número de brotações (NB) e taxas de multiplicação (TM) obtidos no quarto, quinto e sexto subcultivos (SUB), a partir de explantes de bananeira (*Musa* AAB cv. Maçã) originados de tratamentos físicos para quebra da dominância apical, cultivados em meio MS modificado e suplementado com 2,3 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 0,18 mg.L<sup>-1</sup> de AIA.

Tratamentos	N.º de brotos aos 80 dias	4.º SUB (108 dias)		5.º SUB (136 dias)		6.º SUB (164 dias)	
		NB	TM	NB	TM	NB	TM
1. Explante sem cortes	60	137	2,28	163	1,19	214	1,31
2. Explante dividido ao meio	91	155	1,70	259	1,67	308	1,19
3. Explante dividido em quatro partes	24	34	1,42	55	1,62	78	1,42
4. Explante cortado superficialmente em seis partes	66	98	1,48	131	1,34	135	1,03
TOTAL	241	424	1,76	608	1,43	735	1,20

Pelas Figuras 5 a 7, verifica-se que a produção de brotos teve um crescimento linear durante o tempo de cultivo *in vitro* (do quarto ao sexto subcultivos). Para o tratamento 4 (corte superficial do explante em seis partes), o efeito do período de cultivo foi quadrático (Figura 8), apresentando também uma redução na taxa de multiplicação à medida que se aumentou o número de subcultivos.

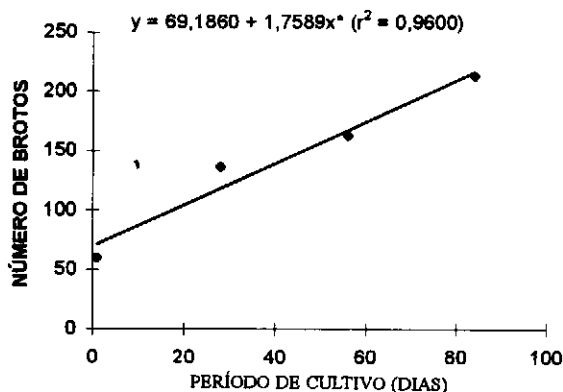


Figura 5. Produção de brotos em banana (*Musa AAB* cv. Maçã) a partir do quarto subcultivo (a cada 28 dias) e de explantes sem cortes na fase inicial do estabelecimento, cultivados em meio MS modificado e suplementado com 2,3 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 0,18 mg.L<sup>-1</sup> de AIA.

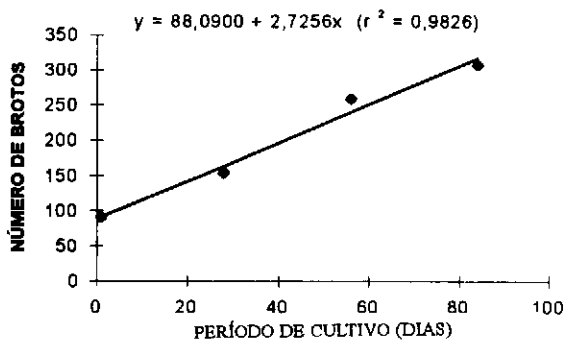


Figura 6. Produção de brotos em banana (*Musa AAB* cv. Maçã), a partir do quarto subcultivo (a cada 28 dias), originados de explantes divididos ao meio na fase inicial do estabelecimento e cultivados em meio MS modificado, suplementado com 2,3 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 0,18 mg L<sup>-1</sup> de AIA.

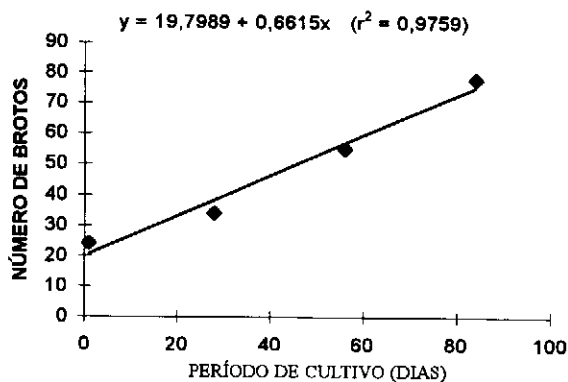


Figura 7. Produção de brotos em explantes de banana (*Musa AAB* cv. Maçã) a partir do quarto subcultivo (a cada 28 dias) e de explantes divididos em quatro partes na fase inicial do estabelecimento, cultivados em meio MS modificado e suplementado com 2,3 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 0,18 mg L<sup>-1</sup> de AIA.

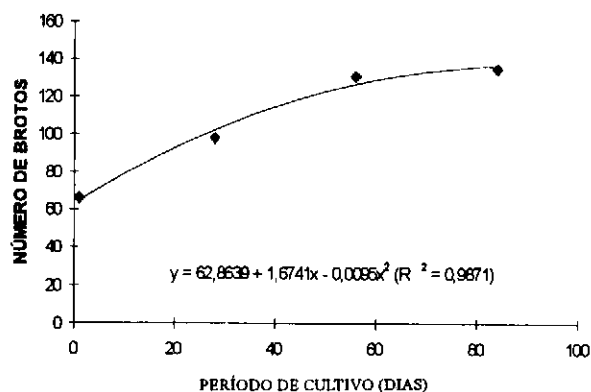


Figura 8. Produção de brotos em explantes de banana (*Musa AAB* cv. Maçã) a partir do quarto subcultivo (a cada 28 dias) e de explantes cortados superficialmente em seis partes e cultivados em meio MS modificado e suplementado com 2,3 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 0,18 mg L<sup>-1</sup> de AIA.

## CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, podemos concluir que a realização de tratamentos físicos (cortes), em explantes iniciais de banana-maçã, para a quebra da dominância apical, cultivada *in vitro* não influenciou significativamente na proliferação de brotos, até os 80 dias.

O surgimento de brotos em banana-maçã, cultivada *in vitro*, foi diretamente proporcional ao tempo de cultivo, até o sexto subcultivo e os cortes realizados em explantes iniciais para a quebra da

dominância apical provocaram maior perda por contaminações e/ou oxidações.

Um maior número de brotos foi obtido, após 164 dias de cultivo *in vitro*, quando se cortou o explante inicial em duas partes, e a taxa de multiplicação teve uma tendência de redução até o sexto subcultivo.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, W. C. 1984. A revised tissue culture medium for shoot multiplication of *Rhododendron*. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 109:343-47.
- Athaide, M. O. 1994. Propagação *in vitro* da bananeira "Ouro da Mata". In Congresso Brasileiro de Fruticultura, 13. Salvador, BA. p.139. Resumos
- Barker, W. G. 1959. A system of maximum multiplication of banana plants. Trop. Agric., 36:275-84.
- Banerjee, N. & E. Langhe. 1985. A tissue culture technique for rapid clonal propagation and storage under minimal growth conditions of *Musa* (banana and plantain). Plant Cell Reports, 4:351-54.
- Cronauer, S. S. & A. D. Krikorian. 1984a. Multiplication of *Musa* from excised stem tips. Annals of Botany, 53:321-28.
- Cronauer, S. S. & A. D. Krikorian. 1984b. Rapid multiplication of bananas and plantains by *in vitro* shoot tip culture. HortScience, 19(2):234-35.
- Damasco, O. P. & R. C. Barba. 1984. *In vitro* culture of Saba banana (*Musa* sp cv. Saba (BBB)). Phil. Agr., 67:351-58.
- Grattapaglia, D. & M. A. Machado. 1990. Micropropagação. In Torres, A.C. & L. S. Caldas. Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas. ABCTP/CNPH/Embrapa, Brasília, DF. 433p.
- Gupta, P. P. 1986. Eradication of mosaic disease and rapid clonal multiplication of bananas and plantains through meristem tip culture. Plant Cell Tissue Organ Culture, 6:33-39.
- Hamilton, K. S. 1965. Reproduction of banana from adventitious buds. Trop. Agric., 42(1):69-73.
- Jarret, R. L., W. Rodriguez & R. Fernandez. 1985. Evaluation, tissue culture propagation and dissemination of "Saba" and "Pelipita" plantains in Costa Rica. Scientia Horticulturae, 25:136-47.
- Lane, W. D. 1979. Regeneration of pear plants from shoot meristem-tips. Plant Science Letters, 16:337-42.
- Langhe, E. 1961. Multiplication végétative accélérée, en plantation, du bananier plantain "Bosua". Bull. d'Inform. de L'Ineac, 10(2):69-90.
- Ma, S. S. & C. T. Shii. 1972. *In vitro* formation of adventitious buds in banana shoot apex following decapitation. J. Chinese Soc. Hort. Sci., 18:135-42.
- Murashige, T. & F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15:473-97.
- Swamy, R. D., N. K. S. Rao & E. K. Chacko. 1983. Tissue culture propagation of banana. Sci. Hort., 18:247-52.
- Vessey, J. C. & J. A. Riviera, 1981. Meristem culture of bananas. Turrialba, 31(2):162-63.
- Vuylsteke, D. & E. Langhe. 1985. Feasibility of *in vitro* propagation of bananas and plantains. Trop. Agric., 62(4):323-28.
- 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, 6:159-66.
- Zaffari, G. R., L. F. Soliman Filho & H. Stuker. 1994. Efeito do tamanho do explante e da quebra de dominância apical, sobre a brotação das gemas laterais na produção de mudas de bananeira, *in vitro*. Rev. Bras. Frutic., 16(3):71-76.