

# MICROPROPAGAÇÃO DE BAIXO CUSTO EM BANANEIRA CV. MAÇÃ EM MEIOS COM DIFERENTES FONTES DE CARBONO E AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE EM CAMPO DAS MUDAS PRODUZIDAS<sup>1</sup>

WALTER FERNANDO BERNARDI<sup>2</sup>, BENEDITA INÊS RODRIGUES<sup>3</sup>, PAULO CASSIERE NETO<sup>3</sup>, AKIHIKO ANDO<sup>4</sup>, AUGUSTO TULMANN NETO<sup>5</sup>, LEONARDO COUTINHO CERAVOLO<sup>6</sup>, SONIA MARIA NALESSO MARANGONI MONTES<sup>6</sup>

**RESUMO** - Este trabalho teve como objetivo reduzir o custo da micropropagação de bananeira cv. Maçã (*Musa spp* AAB), bem como avaliar o desenvolvimento em campo das mudas produzidas. Para tanto, cultivaram-se, no Centro de Energia Nuclear na Agricultura – USP, explantes de bananeira em meio de multiplicação MS com diferentes fontes de carbono (açúcar). As fontes de carbono testadas foram: sacarose P.A., açúcar cristal e açúcar mascavo. Após a etapa de micropropagação, as plantas foram avaliadas quanto as suas características em campo, na cidade de Presidente Prudente-SP, em 2002. O desenvolvimento e vigor *in vitro* dos explantes nos três tratamentos testados foram semelhantes. A média do número de brotos produzidos em meio contendo açúcar cristal foi semelhante ao da sacarose P.A. e superior ao do açúcar mascavo. Em campo, as plantas produzidas em meios com diferentes fontes de carbono não apresentaram diferenças estatísticas entre as características avaliadas, e não houve ocorrência de variação somaclonal. Com esta alternativa de produção *in vitro* de bananeira cv. Maçã, pode-se ter uma redução de cerca de 50% do custo para a produção de 1 litro de meio de cultura utilizando açúcar cristal como substituto da sacarose P.A., mantendo-se a qualidade das mudas e reduzindo-se o custo de sua produção.

**Termos para indexação:** bananeira, micropropagação, redução de custo, fonte de carbono, avaliação em campo.

## LOW COST OF MICROPROPAGATION OF BANANA CV. MAÇÃ IN MEDIA WITH DIFFERENT CARBON SOURCE AND EVALUATION OF PERFORMANCE OF SHOOT PRODUCTION IN FIELD

**ABSTRACT** - The aims of the present work were to reduce the production cost of micropropagation of shoot tips of banana cv. Maçã (*Musa spp.* AAB) and to evaluate their performance in field. The micropropagation was performed in Nuclear Energy Center of Agriculture – USP, with explants in multiplication MS media, containing different carbon sources (sucrose P.A., crystal sugar and mascavo sugar). The number of shoot tips produced during treatments was not different statistically in response to sucrose P.A. and crystal sugar, but crystal sugar was superior to mascavo sugar. In the field of Presidente Prudente-SP city, plants obtained from different treatments of micropropagation stages did not show differences in agronomical characteristics, and the occurrence of somaclonal variation was not observed. Utilization of crystal sugar could reduce about 50% of the media costs, maintaining the same quality of shoots tips micropropagated on sucrose P.A. medium.

**Index terms:** banana, micropropagation, reduction of cost, carbon sources, evaluation in field.

### INTRODUÇÃO

A banana (*Musa spp.*) é uma das frutas mais consumidas no mundo, sendo cultivada na maioria dos países tropicais. No Brasil, a banana se destaca entre os principais produtos agrícolas, ocupando o segundo lugar, dentre as frutas, na preferência dos consumidores.

Pela grande importância da cultura da bananeira no País, uma promissora alternativa de propagação é a cultura de tecido, cuja principal meta é a produção massal de indivíduos geneticamente idênticos e fisiologicamente uniformes, com desenvolvimento normal e com plantas livres de doenças, pragas e vírus (Kozai et al., 1997).

Anteriormente, no Brasil, existiram problemas relacionados à qualidade das mudas micropropagadas de bananeira, devido às altas porcentagens de variação somaclonal. Estudos indicam que isto ocorre devido ao excessivo número de repicagens (Rodrigues, 1996). Atualmente, tal problema foi minimizado e, com a possibilidade de se reduzir o custo de produção pelas companhias de biotecnologia e venda de tais mudas, espera-se maior utilização destas mudas pelos agricultores. Vários são os fatores que oneram o preço final das mudas micropropagadas (Lemos et al, 2001), e os altos custos envolvidos têm dificultado a produção nos laboratórios com recursos limitados (Kodym and Zapata-Arias, 2001).

Com o avanço das pesquisas, algumas técnicas estão sendo empregadas com a finalidade de se reduzirem os custos das mudas

micropropagadas. Kodym and Zapata (2001) afirmam que, usando luz natural para micropropagação e substituindo alguns produtos no meio de cultura, como a sacarose utilizada por açúcar comercial, e o ágar parcialmente por amido de milho e alguns outros produtos, pode-se reduzir o custo com a micropropagação em até 90%. Zimmerman et al. (1995) usaram agente de solidificação misto (5% de amido de milho e 0,05% Gelrite) para cultura de tecido de frutíferas, e obtendo bons resultados, mostraram aos laboratórios alternativas para a micropropagação.

Mais recentemente, uma técnica que vem sendo empregada para aumentar a eficiência de micropropagação e para redução de custo, é o sistema de biorreatores, que apresenta uma taxa de multiplicação 2,20 vezes maior que o sistema de propagação *in vitro* (Lemos et al., 2001). Entretanto, não basta apenas a redução do custo de produção, é necessário que a muda micropropagada de baixo custo apresente, em condições de campo, a mesma performance agrônômica das obtidas, utilizando-se do sistema convencional de micropropagação. Na literatura, faltam maiores informações a respeito e, por isso, este trabalho objetivou testar diferentes fontes de carbono utilizadas no meio de cultura, visando à diminuição do custo de produção de mudas de bananeira cv. Maçã, e estudar o possível efeito destas fontes no desenvolvimento e na produção em condição de campo das plantas originadas destas mudas.

<sup>1</sup> (Trabalho 022/2004). Recebido: 11/03/2004. Aceito para publicação: 15/09/2004

<sup>2</sup> Eng. Agr.- aluno de doutorado do Departamento de Genética-ESALQ-USP - Av. Pasteur, 14, CEP:13414-046, Areão, Piracicaba-SP (19) 3421-2142, wfbernardi@yahoo.com.br;

<sup>3</sup> Técnicos de laboratório do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA-USP)

<sup>4</sup> Eng. Agr. Prof. Dr. ESALQ-USP e CENA-USP.

<sup>5</sup> Eng. Agr. Prof. Dr. do CENA-USP;

<sup>6</sup> Eng. Agr. da APTA - Alta Sorocabana, sede Presidente Prudente.

Órgão Financiador: FAPESP, IAEA

## MATERIALE MÉTODOS

Como material de estudo, utilizou-se a bananeira cv. Maçã (*Musa* sp AAB). Mudanças do tipo chifre e chifrinho foram obtidas juntos aos produtores da região de Fernandópolis-SP, no ano de 2000.

Após a obtenção das mudas, estas foram levadas ao Laboratório de Melhoramento de Plantas, do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA/USP), onde passaram por um processo de assepsia e diminuição do tamanho das mudas, cortando-se o pseudocaule, deixando-se somente cerca de 10cm de explante envolto por algumas camadas de bainhas foliares. Estes foram rapidamente imersos em álcool puro para a quebra da tensão superficial e colocados em solução de água e hipoclorito de sódio (2% de cloro ativo), na proporção de 2:1, por 30 minutos. Em câmara de fluxo laminar, os explantes foram lavados três vezes com água destilada esterilizada a 121°C e 1atm por 30 minutos. Após este processo, os explantes foram inoculados em frascos de 200 mL com 50 mL de meio de multiplicação MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com vitamina Morel, 2,0gL<sup>-1</sup> de phytigel, 2,5mgL<sup>-1</sup> de 6-benzilaminopurina (BAP) e 45gL<sup>-1</sup> de sacarose. Aos 30 dias após a inoculação, os explantes foram repicados e transferidos para meio de multiplicação: MS suplementado com vitamina Morel, 2,0gL<sup>-1</sup> de phytigel, 4,5gL<sup>-1</sup> de BAP e 45gL<sup>-1</sup> de sacarose, com a finalidade de aumentar o número de brotos. Após mais de 30 dias de cultivo, obteve-se número suficiente de explantes para a montagem dos experimentos.

### Efeito das diferentes fontes de carbono na multiplicação *in vitro*

Com o objetivo de comparar o desenvolvimento e a multiplicação dos explantes de bananeira cv. Maçã em meio MS de multiplicação com diferentes fontes de carbono (açúcar), montou-se o experimento em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e 15 repetições, utilizando-se de frascos de 200mL com 50 ml de meio de multiplicação, com cinco explantes/frasco. Os tratamentos testados foram: meio MS de multiplicação contendo 45gL<sup>-1</sup> de sacarose P.A., meio MS de multiplicação contendo 45g.L<sup>-1</sup> de açúcar cristal e meio MS de multiplicação contendo 45g.L<sup>-1</sup> de açúcar mascavo.

As culturas foram incubadas em sala de crescimento (27°C ± 2°C) no CENA-USP, na cidade de Piracicaba-SP, que está localizada a 554m de altitude, 22°43'30" S de latitude, 47°38' de longitude. Após 30 dias de cultivo, as culturas foram avaliadas quanto ao número de brotos emitidos e ao seu desenvolvimento. Ao término da avaliação do experimento, as plântulas foram transferidas para meio de enraizamento: MS suplementado com vitamina Morel, 2,0 gL<sup>-1</sup> de phytigel e 45g.L<sup>-1</sup> da mesma fonte de açúcar que foi utilizado para a multiplicação.

Com as mudas já enraizadas (cerca de 30 dias após a transferência), estas foram transplantadas para bandejas com substrato comercial (PLANTIMAX), onde foram deixadas em umidificador, por cinco dias, sendo este ligado 15 minutos por hora. Após este período, as plantas completaram seu desenvolvimento em casa de vegetação, até serem levadas a campo.

### Avaliação em campo de mudas obtidas com diferentes fontes de carbono

O experimento de campo foi instalado na área experimental da APTA Alta Sorocabana, em 20 de fevereiro de 2001, na cidade de Presidente Prudente-SP, que está localizada a 424,29m de altitude, 22°11' S de latitude e 51°23' W de longitude. A cidade apresenta um clima Subtropical com verões quentes e chuvosos e invernos secos e frios, com uma temperatura média anual de 23°C.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com quatro repetições e três tratamentos, utilizando-se de cinco plantas por repetição. Os tratamentos foram: 1- plantas produzidas *in vitro* em meio contendo sacarose; 2- plantas produzidas *in vitro* em meio contendo açúcar cristal, e 3- plantas produzidas *in vitro* em meio contendo açúcar mascavo. Cada parcela experimental foi cercada por bordadura composta pelo mesmo tratamento. O espaçamento utilizado foi de 2 x 3m.

As mudas produzidas, de acordo com o que foi descrito, com cerca de 30cm de altura, foram levadas a campo e avaliadas quanto às seguintes características: peso do cacho(kg), altura das plantas em metros (considerando a altura do solo até o ponto de inserção da última folha), número de pencas/cacho, altura da emissão do cacho em metros (considerando a altura do solo até o ponto máximo que o engajo atinge), número de frutos/penca, diâmetro do fruto(cm), comprimento do fruto(cm), diâmetro do pseudocaule(cm) a 20cm de altura e número de dias para emissão dos cachos.

Após instalado o experimento em campo, as plantas foram acompanhadas por técnicos da APTA Alta Sorocabana. Foram realizados os desbastes, deixando dois brotos laterais por planta. As folhas velhas foram eliminadas e, na época apropriada, foi retirado o coração. As entrelinhas foram roçadas com roçadeira e, nas linhas, foram feitas capinas manuais.

Para todas as características avaliadas *in vitro* e em campo, foram realizadas análises estatísticas de comparação das médias, por meio do teste de Tukey.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Micropropagação em meios contendo diferentes fontes de carbono

Quanto ao desenvolvimento *in vitro*, as plantas apresentaram bom desenvolvimento e vigor nos três tratamentos. A média do número de brotos obtida foi de 6.20; 5.06 e 3.50, respectivamente, para açúcar cristal, sacarose P.A. e açúcar mascavo (Tabela 1). Verifica-se que o número de brotos produzido, utilizando-se de sacarose P.A. e açúcar cristal, foi semelhante e superior ao de açúcar mascavo. Estes dados estão de acordo com Kodym & Zapata-Arias (2001), os quais relataram que os açúcares menos purificados diminuem a taxa de micropropagação, e observaram que, com os meios utilizados, contendo diferentes tipos de açúcares, a qualidade das plantas foi boa.

**TABELA 1** - Comparação das médias dos números de brotos por explante em meios com diferentes fontes de carbono, avaliados aos 30 dias de multiplicação, Piracicaba-SP, 2000.

Fonte de Carbono	Média de brotos/explante
Açúcar Cristal	6.20 a
Sacarose P.A.	5.06 a
Açúcar Mascavo	3.50 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Teste de Tukey, a 1% de significância.

Desvio-Padrão: 0.7627    Coef. Variação: 32.92    Dados transf. em (x+1)<sup>1/2</sup>

Fazendo-se inferência à coloração, dos três tratamentos testados, o com sacarose foi o que apresentou plantas com uma coloração mais clara, concordando com os dados de Kodym & Zapata-Arias (2001), onde observaram que, no meio com açúcar mascavo, as plantas tiveram uma coloração verde mais intensa do que em meio com açúcar cristal e meio com sacarose.

Com base nos resultados de número de brotos/explante e no desenvolvimento das plantas *in vitro*, é possível substituir a fonte de carbono sacarose P.A. por açúcar cristal em meio de propagação *in vitro* para o cultivo de bananeira cv. Maçã, sem que haja diminuição da taxa de propagação do material. Ganapathi et al. (1995) afirmam que o açúcar comercial pode substituir a sacarose P.A., sem que haja mudança significativa na frequência de formação dos brotos em bananeira. Este procedimento traz uma redução no custo de produção, como se pode observar pelos resultados da Tabela 2.

Após análise dos cálculos, pôde-se constatar que, para a produção de 1L de meio de cultura utilizando sacarose P.A., gasta-se R\$= 4,16, e utilizando açúcar cristal R\$= 2,07, o que nos permite inferir uma redução de 50.2% no custo de produção de 1L de meio de cultura, somente substituindo a sacarose P.A. por açúcar cristal.

**TABELA 2** - Estimativa de preço gasto com reagentes para a produção de 1 L de meio de cultura considerando o uso de três diferentes fontes de carbono.

Produtos Químicos	Preço em US\$/L*	Preço em R\$/L**
Macronutrientes	0.260	0.780
Micronutrientes	0.00822	0.02466
Vitamina Morel	0.00457	0.01371
Hormônio (BAP)	0.0482	0.1446
Phytigel	0.3548	1.0644
Sacarose P.A.	0.711	2.133
Açúcar Cristal	0.01575	0.04725
Açúcar Mascavo	0.07110	0.21375
<b>Total com Sacarose P.A.</b>	<b>1.38679</b>	<b>4.16037</b>
<b>Total com Açúcar Cristal</b>	<b>0.69154</b>	<b>2.07462</b>
<b>Total com açúcar Mascavo</b>	<b>0.74689</b>	<b>2.24067</b>

\*Catálogo de referência de preços: Sigma 2001-2002 ; \*\*US\$ = 3.00 reais

Kodym and Zapata-Arias (2001) reportaram que o custo de 1kg do açúcar comercial na Áustria é 10 vezes menor que o custo de 1kg da sacarose P.A.. No Brasil, essa diferença é de aproximadamente 45 vezes. No entanto, vários outros parâmetros alternativos podem ser utilizados para reduzir o custo da micropropagação durante a fase de cultivo *in vitro*. Além da fonte de carbono, outros fatores podem ser substituídos, tais como, agentes solidificantes (ágar e phytigel) por meio líquido ou por fibras de algodão como suporte para as plantas em meio líquido, macros e micronutrientes por extrato de banana e água de coco, assim como água mineral ao invés de destilada ou deionizada, e uma fonte alternativa de luz (IAEA-TECDOC, 2004). Sendin (2001) conseguiu uma redução de 85,4% no custo de mudas micropropagadas de bananeira cv. Maçã, utilizando luz natural, substituindo a sala de crescimento por telado.

Debiasi et al. (2003), avaliando o desenvolvimento inicial de gemas de bananeira *in vitro* em total ausência da radiação fotossintética ativa, observaram que a luz não é necessária durante o primeiro estágio de vida da cultura *in vitro*, conseqüentemente, pode-se reduzir o custo final da muda micropropagada de bananeira.

Com todos os parâmetros de interesse avaliados (brotação, desenvolvimento e custo com reagentes), pode-se afirmar que o açúcar cristal é um substituto para a sacarose P.A. nos meios de cultura para multiplicação de bananeira cv. Maçã, com a vantagem de seu preço ser mais baixo que a sacarose P.A. e o açúcar mascavo, e sua multiplicação ser superior ao tratamento com açúcar mascavo e igual ao da sacarose P.A..

#### Avaliação do desenvolvimento em campo e produção de plantas originadas em meios contendo diferentes fontes de carbono

As características avaliadas, tais como da altura da planta, altura da emissão do cacho, número de pencas por cacho, número de frutos por penca, comprimento do fruto, diâmetro do fruto, peso do cacho, diâmetro do caule a 20cm e número de dias para a emissão do cacho, não apresentaram diferenças estatísticas entre os três tratamentos testados, conforme apresentadas na Tabela 3.

Como se observa nas características avaliadas, as plantas

micropropagadas em meios contendo diferentes fontes de carbono (açúcares) não mostraram diferenças no desenvolvimento em campo e na sua produção. Tal resultado permite substituir a sacarose P.A. por açúcar cristal no meio de micropropagação, com a vantagem de o preço da muda produzida ser menor.

Estes resultados são satisfatórios, pois, pelas características avaliadas não terem diferido nos três tratamentos, pode-se ter a segurança de que as diferentes fontes de carbono utilizadas não induziram a variação somaclonal no material micropropagado.

A ausência de variação somaclonal é importante para o sucesso e a superioridade na performance em campo das plantas micropropagadas em comparação com as mudas convencionais. Robinson et al. (1993), testando mudas das variedades Grande Naine e Williams, obtidas por métodos *in vitro* e convencional, por três ciclos de produção, observaram que as plantas de mudas micropropagadas mostraram uma superioridade de 14% na produção. Resultados semelhantes foram obtidos por Álvares & Caldas (2002), comparando plantas obtidas pela micropropagação e por métodos convencionais de bananeira cv. Prata-Anã e Nanicão; as plantas originárias de micropropagação de Prata-Anã foram significativamente superiores às obtidas por métodos convencionais em todos os parâmetros avaliados pelo autor, inclusive no de produção. Para a cv. Nanicão, o autor não encontrou diferenças significativas entre as mudas de duas origens, para as características avaliadas.

Resultados contrastantes foram obtidos por Fornasieri (1998), onde plantas originadas de rizomas obtiveram melhores resultados que as micropropagadas, no que diz respeito às variáveis de maior interesse comercial, ou seja, número de pencas e peso dos cachos. Contudo, o autor supõe que essa pior performance a campo das plantas produzidas *in vitro* seja devido à variação somaclonal. Scarpore Filho (1998), avaliando o primeiro ciclo produtivo de bananeira cv. Nanicão, desenvolvida a partir de diferentes tipos de muda (chifirão, chifrinho, guarda-chuva, pedaços de rizomas e mudas micropropagadas), observou que o pior desempenho foi verificado nas mudas micropropagadas, com produções inferiores a todos os tratamentos. Contudo, o autor observou uma alta taxa de variação somaclonal nas plantas de cultura de tecido.

No presente trabalho, foi avaliado somente o primeiro ciclo de

**TABELA 3** - Comparação das médias das características avaliadas em campo do primeiro ciclo de produção de mudas micropropagadas de bananeira cv. Maçã, provenientes de meio de cultura com diferentes fontes de carbono. Ensaio conduzido em Presidente Prudente-SP (2002), em blocos ao acaso, com quatro repetições.

Tratamentos	Altura da Planta (m)	Altura Emissão do Cacho (m)	Nº Pencas	Nº Frutos por Penca	Comprim. do Fruto (cm)	Peso do Cacho (Kg)	Diâm. do Fruto (cm)	Diâm. do Caule (cm)	Dias para Emissão do Cacho
Sacarose P.A.	2.32 a	2.45 a	5.95 a	10.20 a	12.50 a	4.33 a	2.82 a	16.50 a	398 a
Ac. Cristal	2.39 a	2.50 a	5.97 a	10.37 a	12.25 a	4.48 a	2.90 a	16.75 a	400 a
Ac. Mascavo	2.39 a	2.48 a	5.80 a	11.00 a	12.75 a	5.18 a	2.92 a	16.75 a	401 a
Teste F	1.00	1.19	1.16	1.35	0.51	0.96	1.20	0.99	0.35
C.V (%)	3.31	3.19	4.79	8.33	6.11	16.89	2.77	5.92	2.03

Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si. Teste de Tukey, a 1% de significância

produção devido ao desenvolvimento da doença Mal-do-Panamá, para a qual a bananeira cv. Maçã é suscetível. Com o aparecimento da doença, a avaliação do segundo ciclo de produção ficou comprometida. Entretanto, o aspecto similar das plantas, nos três tratamentos, durante o primeiro ciclo, confirmado pelas análises estatísticas, permite concluir que não serão encontradas diferenças entre os três tratamentos, para o segundo ciclo de produção.

### CONCLUSÕES

1) O açúcar cristal foi utilizado com sucesso na substituição da sacarose P.A., resultando num preço final menor na micropropagação de mudas de bananeira cv. Maçã.

2) A produção e o desenvolvimento em campo das plantas não são influenciados pelas diferentes fontes de carbono utilizadas *in vitro*.

### REFERÊNCIAS

- ÁLVARES, M. C.; CALDAS, L.S. Crescimento, produção e variação somaclonal em bananeiras micropropagadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.3, 2002.
- DEBIASI, C.; ZAFFARI, G. R.; GUERRA, M.P. Efeito da radiação fotossintética ativa no desenvolvimento inicial de bananeira *in vitro*. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.9, n.2, p.175-176, 2003.
- FORNASIERI, J. L. Estudo da bananeira (*Musa sp*) oriunda de cultura de tecido e rizoma cv Nanicão e Grande Naine. 1998. 69f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.
- GANAPATHI, T.R.; MOHAN, J.S.S.; SUPRASANNA, P.; BAPAT, V.A.; RAO, P.S. A low-cost strategy for *in vitro* propagation of banana. **Current Science**, Bangalore, v.68, p.646-649, 1995.
- IAEA-TECDOC-1384. Low cost options for tissue culture technology in developing countries. In: TECHNICAL MEETING, 2002, Vienna. **Proceedings...** Vienna: Nuclear in Food and Agriculture, 2002. Disponível em: <[http://www.pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/te\\_1384\\_web.pdf](http://www.pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/te_1384_web.pdf)>
- KODYM, A.; ARIAS, F.J.Z. Low-cost alternatives for the micropropagation of banana. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.66, p.67-71, 2001.
- KOZAI, T.; KUBOTA, C.; BYOUNG, R.J. Environmental control for the large-scale production of plants through *in vitro* techniques. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 51, p.49-56, 1997.
- LEMONS, E.E.P.; FERREIRA, M.S.; ALENCAR, L.M.C.; OLIVEIRA, J.G.L.; MAGALHÃES, V.S. Micropropagação de clones de banana cv. Terra em biorreator de imersão temporária. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.3, p.482-487, 2001.
- MURASHIGE T.; SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 4, p. 473-497, 1962.
- ROBINSON, J.C.; CONNIE FRASER.; ECKSTEIN, K. A field comparasion of conventional suckers with tissue banana plantaing material over three crop cycles. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 68, n.6, p. 831-836, 1993.
- RODRIGUES, P. H. V. Efeito do número de subcultivos, na ocorrência de variação somaclonal, em mudas de bananeira micropropagadas, das cultivares Nanicão e Grande Naine. 1996. 104f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – CENA, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.
- SCARPARE FILHO, J.A; MINAMI, K.; KLUGE, R.A.; TESSARIOLI NETO, J. Estudo do primeiro ciclo produtivo da bananeira ‘Nanicão’ (*Musa sp.*) desenvolvida a partir de diferentes tipos de muda, **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n.1, 1998.
- SENDIN, A. P. P. M. Micropropagação de bananeira das cultivares Maçã e Grande Naine visando à produção de mudas de baixo custo. 2001. 72f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.
- ZIMMERMAN, R.H.; BHARDWAJ, S.V.; FORDHAM, I.M. Use of starch-gelled medium for tissue culture of some fruit crops. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht v.43, p. 207-213, 1995.