

**FONTES ALTERNATIVAS DE MINERAIS E SACAROSE NA
MICROPROPAGAÇÃO DA BANANEIRA CV. WILLIAMS**

MONIQUE RODRIGUES PEREIRA

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2014**

**FONTES ALTERNATIVAS DE MINERAIS E SACAROSE NA
MICROPROPAGAÇÃO DA BANANEIRA CV. WILLIAMS**

MONIQUE RODRIGUES PEREIRA

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientadora: Prof^a. Virginia Silva Carvalho

Coorientador: D.Sc. Clayton Debiasi

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2014

FONTES ALTERNATIVAS DE MINERAIS E SACAROSE NA
MICROPROPAGAÇÃO DA BANANEIRA CV. WILLIAMS

MONIQUE RODRIGUES PEREIRA

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Aprovada em 05 de fevereiro de 2014

Comissão Examinadora

Dr. Clayton Debiasi (D.Sc., Horticultura) – Instituto Biosomática

Prof. Cláudio Luiz Melo de Souza (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF

Prof.^a Marta Simone Mendonça Freitas (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF

Prof.^a Virginia Silva Carvalho (D.Sc., Fitotecnia) – UENF
(Orientadora)

DEDICO E OFEREÇO

Aos meus pais Carmen e Salvador, por todo o amor, dedicação, segurança, apoio e incentivo. Por estarem sempre ao meu lado, moldando meu caráter e guiando meus passos nos caminhos da honestidade, da justiça e do respeito ao próximo.

Por me ensinarem que a batalha é grande, mas a vitória é certa!

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as bênçãos concedidas ao longo da minha vida e por me permitir o mérito deste título;

Aos meus pais Carmen e Salvador, pelo apoio emocional e financeiro e por todo carinho e cuidado que sempre tiveram comigo. Também por me incentivarem e confiarem em mim para dar continuidade aos meus estudos;

À minha família, por todo apoio e incentivo;

Ao meu namorado Rodrigo, pela amizade, pelo companheirismo, pelo apoio incondicional e por toda ajuda dispendida na avaliação final do experimento e na formatação da dissertação. Por me ouvir e me oferecer seu carinho nos momentos de desespero e angústia. Por ter trazido do Espírito Santo os adubos que faltavam para a montagem do experimento. E também pelos momentos de alegria e descontração que me proporciona desde que entrou na minha vida;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal pela oportunidade de realização do curso;

A FAPERJ, pela concessão da bolsa de estudos;

À Prof.^a Virginia pela orientação, pela confiança e pelo incentivo. Pelo discernimento apresentado nos momentos de grande dificuldade pelos quais passou e mesmo assim foi capaz de nos dar força e cumprir com suas responsabilidades com profissionalismo e dedicação;

Ao Dr. Clayton Debiasi pela orientação e por ter sugerido a ideia que deu origem a esta pesquisa. Pela forma simpática e solícita com a qual me tratou na primeira vez em que nos encontramos;

Ao Instituto Biosomática pela disponibilização das mudas de bananeira 'Williams' e pela parceria criada com a Universidade para a realização deste trabalho;

A Empresa Heringer pelo fornecimento dos adubos utilizados no preparo dos meios de cultivo;

A Luciene, Andressa e Nayara, minhas companheiras de mestrado que se tornaram amigas verdadeiras, que pretendo manter para o resto da vida. Por toda a ajuda que me deram e também pelos momentos de alegrias e angústias que dividimos. Seria mais difícil sem vocês!

À querida Beth, pela disponibilidade em me ajudar e por fazer isso sempre com um sorriso no rosto. Por todas as horas que passamos juntas na câmara de fluxo laminar avaliando o experimento, incluindo os finais de semana. Pela extrema boa vontade que sempre demonstrou com todos do laboratório.

Pelos quitutes maravilhosos que preparava e me faziam fugir da dieta!

À minha amiga Naiara, que me acompanha no laboratório desde a graduação e sempre demonstrou ser solidária e companheira. Pelo auxílio nas avaliações até altas horas e nos finais de semana. Por todas as risadas que me proporcionou com seu bom-humor cativante (e até com o mau-humor também)!

Aos colegas do laboratório de cultura de tecidos: Léia, Ramon, Renato, Rafael, Carmen, Miraldo, Silviana, Gilssara e Mayara, pela ajuda em todas as avaliações e pelos momentos de alegria;

Ao Setor de Nutrição Mineral de Plantas pela ajuda na realização das análises nutricionais, em especial ao Sr. Acácio, pelo auxílio, pela boa vontade e pela paciência na condução dos trabalhos;

Ao Setor de Fisiologia Vegetal por ter disponibilizado os equipamentos para as análises fisiológicas. Ao Fábio por me ajudar na coleta dos dados e análise dos resultados. A Amanda pela ajuda na coleta e quantificação dos pigmentos fotossintéticos;

Ao Prof. Cláudio Melo pela ajuda nas análises estatísticas e interpretação dos dados;

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Aspectos gerais da cultura.....	3
2.2. Importância econômica da bananeira	6
2.3. Cultivares	9
2.4. Propagação da bananeira.....	10
2.5. Fontes alternativas na micropropagação da bananeira	14
2.6. Nutrição mineral da bananeira	16
3. OBJETIVOS.....	23
3.1. Geral	23
3.2. Específicos.....	23
4. MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1. Multiplicação <i>in vitro</i>	25
4.2. Enraizamento <i>in vitro</i> das brotações.....	27
4.3. Pré-aclimatização das mudas	28
4.4. Determinação da sobrevivência	29
4.5. Determinação da altura da planta	29

4.6. Diâmetro do pseudocaule	29
4.7. Determinação da fluorescência da clorofila a e índice fotossintético	30
4.8. Determinação dos teores de pigmentos fotossintéticos	30
4.9. Determinação da área foliar.....	31
4.10. Determinação do volume de raízes.....	31
4.11. Determinação da massa da matéria seca.....	31
4.12. Análises nutricionais.....	31
4.13. Monitoramento das temperaturas máxima e mínima e umidade relativa	32
4.14. Análises estatísticas.....	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1. Experimento <i>in vitro</i>	34
5.1.1. Crescimento e multiplicação.....	34
5.1.2. Enraizamento das brotações	37
5.1.3. Análises biométricas.....	38
5.1.4. Análise nutricional	40
5.1.5. Análises fisiológicas.....	43
5.2. Pré-aclimatização das mudas	49
5.2.1. Análises biométricas.....	49
5.2.2. Análise nutricional.....	52
5.2.3. Análises fisiológicas.....	53
6. CONCLUSÕES.....	59
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
APÊNDICE.....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Relação dos sais PA e dos produtos comerciais utilizados no preparo dos meios de cultivo para multiplicação e enraizamento <i>in vitro</i> das brotações de bananeira, com as respectivas concentrações.	26
Tabela 2. Resumo da análise de variância para a variável massa da matéria fresca (g) em função das fontes de sais e sacarose usados no preparo do meio de cultivo para bananeira 'Williams', aos 30, 60 e 90 dias de subcultivo <i>in vitro</i> , Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.....	35
Tabela 3. Resumo da análise de variância para a variável massa da matéria fresca total (g) em função das fontes de sais e sacarose usados no preparo do meio de cultivo para bananeira 'Williams', após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> . Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.....	37
Tabela 4. Resumo da análise de variância para as variáveis biométricas em função das fontes de sais e sacarose usados no preparo do meio de cultivo para bananeira 'Williams', após 120 dias de cultivo <i>in vitro</i> . Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.....	38
Tabela 5. Resumo da análise de variância para nutrientes minerais em função das fontes de sais e sacarose usados no preparo do meio de cultivo para bananeira 'Williams', após 120 dias de cultivo <i>in vitro</i> . Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.	41

Tabela 6. Teores de nutrientes minerais em função das fontes de sais em folhas de bananeira após 120 dias de cultivo <i>in vitro</i> . Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.....	42
Tabela 7. Teores de nutrientes minerais em função das fontes de carbono em folhas de bananeira após 120 dias de cultivo <i>in vitro</i> . Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.....	43
Tabela 8. Resumo da análise de variância para as variáveis fisiológicas em função das fontes de sais e sacarose usados no preparo do meio de cultivo para bananeira ‘Williams’, após 120 dias de cultivo <i>in vitro</i> . Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.....	44
Tabela 9. Resumo da análise de variância para as variáveis biométricas em função das fontes de sais e sacarose usados no preparo do meio de cultivo para bananeira ‘Williams’, após 45 dias de aclimatização. Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.....	50
Tabela 10. Volume de Raízes (VR), Massa da Matéria Seca de Raiz (MSR) e Massa da Matéria Seca Total (MST) em função das fontes de sais e sacarose em mudas de bananeira após 45 dias de aclimatização. Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.....	51
Tabela 11. Resumo da análise de variância para nutrientes minerais em função das fontes de sais e sacarose usados no preparo do meio de cultivo para bananeira ‘Williams’, após 45 dias de aclimatização. Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.....	52
Tabela 12. Resumo da análise de variância para as variáveis fisiológicas em função das fontes de sais e sacarose usados no preparo do meio de cultivo para bananeira ‘Williams’, após 45 dias de aclimatização. Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.....	53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Temperaturas mínimas, médias e máximas diárias registradas em casa de vegetação no período de 25 de setembro a 10 de dezembro de 2013, Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.	33
Figura 2. Umidades relativas mínimas, médias e máximas diárias registradas em casa de vegetação no período de 25 de setembro a 10 de dezembro de 2013, Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.	33
Figura 3. Médias e intervalo de confiança para Massa da Matéria Fresca de mudas de bananeira ‘Williams’ aos 30, 60 e 90 dias de multiplicação <i>in vitro</i>	35
Figura 4. Médias e erro padrão do Número de Brotações desenvolvidas em explantes de bananeira ‘Williams’ aos 60 e 90 dias de multiplicação <i>in vitro</i>	36
Figura 5. Médias e erro padrão da Massa da Matéria Fresca de mudas de bananeira ‘Williams’ após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i>	38
Figura 6. Área foliar (A) e Número de folhas (B) em mudas de bananeira ‘Williams’ após 120 dias de cultivo <i>in vitro</i>	39
Figura 7. Médias e erro padrão da Relação Fv/Fm (A), do Índice Fotossintético (PI) (B) e da Intensidade de Verde (SPAD) (C) em mudas de bananeira ‘Williams’ após 120 dias de cultivo <i>in vitro</i>	45

Figura 8. Médias e erro padrão das Clorofilas <i>a</i> e <i>b</i> (A); relação Clorofila <i>a</i> /Clorofila <i>b</i> (B); Clorofila total (C), Carotenoides (D) e relação Clorofila total/Carotenoides (E) em folhas de bananeira 'Williams após 120 dias de cultivo <i>in vitro</i>	48
Figura 9. Área foliar (A) e Massa da Matéria Seca da Parte Aérea (B) em mudas de bananeira 'Williams' após 45 dias de aclimatização.	51
Figura 10. Médias e erro padrão da Relação F_v/F_m (A), do Índice Fotossintético (PI) (B) e da Intensidade de Verde (SPAD) (C) em mudas de bananeira 'Williams após 45 dias de aclimatização.	55
Figura 11. Médias e erro padrão das Clorofilas <i>a</i> e <i>b</i> (A); relação Clorofila <i>a</i> /Clorofila <i>b</i> (B); Clorofila total (C), Carotenoides (D) e relação Clorofila total/Carotenoides (E) em folhas de bananeira 'Williams após 45 dias de aclimatização.	57

RESUMO

PEREIRA, Monique Rodrigues; M.Sc. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Fevereiro de 2014. Fontes alternativas de minerais e sacarose na micropropagação da bananeira cv. Williams. Orientadora: Prof.^a Virginia Silva Carvalho. Coorientador: D.Sc. Clayton Debiasi.

Com o objetivo de contribuir para a produção de mudas micropropagadas de bananeira a um custo mais acessível, este trabalho propôs o desenvolvimento de meios de cultivo preparados com adubos comerciais em substituição aos sais minerais PA normalmente usados nos laboratórios e biofábricas, além da substituição da sacarose PA por açúcar cristal como fonte de carbono. Uma vez que atualmente a produção de mudas de bananeira é feita quase que exclusivamente por meio da cultura de tecidos, é necessário o aprimoramento dos protocolos existentes visando reduzir os custos do processo. Na etapa de multiplicação *in vitro*, os tratamentos foram dispostos em DIC, em fatorial 2 x 2, sendo duas fontes de sais minerais e duas fontes de carbono, com 15 repetições e quatro brotações cada. Como fontes de sais minerais foram usados reagentes PA e adubos comerciais e como fontes de carbono utilizaram-se sacarose PA e açúcar cristal. O meio de cultivo foi composto pelos sais de MS, vitaminas de White, 8 g L⁻¹ de ágar bacteriológico e 11,1 µmol L⁻¹ de BA. As brotações foram submetidas a três subcultivos, como intervalos de 30 dias e, em seguida foram transferidas para meio de enraizamento, de mesma composição, porém sem o

BA, onde permaneceram por 30 dias. Ao final desta etapa 40% das mudas de cada tratamento foram avaliadas quanto ao número de folhas, à massa da matéria fresca total, à fluorescência da clorofila *a*, aos teores de pigmentos fotossintéticos, ao índice fotossintético, ao volume radicular e às massas da matéria seca da parte aérea, das raízes e total. Em seguida foram submetidas à moagem para realização das análises nutricionais. O restante das mudas foi levado para aclimatização em casa de vegetação, onde permaneceram por 45 dias. A fase de aclimatização seguiu os mesmos tratamentos da etapa *in vitro*, sendo instalada em blocos casualizados, com oito repetições e quatro plantas por parcela. Ao final desta fase foram feitas todas as avaliações supracitadas. Após a etapa *in vitro* verificou-se, que para a maioria dos parâmetros avaliados não houve diferença entre os produtos comerciais e os PA. Os teores de N, P e K nas plantas dos tratamentos com adubos comerciais foram inferiores na fase *in vitro*, porém durante a aclimatização não houve diferença entre os tratamentos. Ao final da aclimatização foi constatada interação significativa para as variáveis volume de raízes, matéria seca de raiz e matéria seca total, sendo que o açúcar cristal associado aos sais minerais comerciais ocasionou médias inferiores para estes três parâmetros. Para os parâmetros nutricionais e fisiológicos não houve influência dos meios de cultivo sobre as plantas ao final da aclimatização. Constatou-se que os sais minerais PA e a sacarose PA podem ser substituídos por produtos comerciais sem ocasionar danos ao crescimento e ao aparato fotossintético das mudas ao final da aclimatização.

Palavras-chave: *Musa* spp., sais minerais PA, sacarose, açúcar cristal, adubos solúveis comerciais.

ABSTRACT

PEREIRA, Monique Rodrigues; M.Sc. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. February, 2014. Alternative sources of minerals salts and sucrose in micropropagation of banana cv. Williams. Adviser: Virginia Silva Carvalho. Co-adviser: Clayton Debiasi.

Aiming to contribute to the production of micropropagated banana plantlets at a more affordable cost this paper proposed the development of culture media prepared with commercial fertilizers to replace the minerals PA commonly used in laboratories and bio-factories, and the replacement of sucrose PA by granulated sugar as the carbon source. Since currently the production of banana plantlets is done almost exclusively by means of tissue culture, the enhancement of existing protocols to reduce the costs of the process is necessary. *In vitro* multiplication stage, the treatments were arranged in a completely randomized design, in a 2 x 2 factorial, with two sources of minerals and two carbon sources, with 15 replications and four shoots each. The minerals sources used were commercial fertilizers and PA reagents and granulated sugar and PA sucrose were used as carbon sources. The culture medium was composed of MS salts, White's vitamins, 8 g L⁻¹ bacteriological agar and 11,1 µmol L⁻¹ BA. Shoots were subjected to three subcultures, such as every 30 days and then were transferred to rooting medium of the same composition, but without BA, where they remained for 30 days. At the end of this stage, 40% of the plantlets of each treatment were assessed as the

number of leaves, total fresh matter, chlorophyll a fluorescence, photosynthetic pigments content, photosynthetic rate, root volume and dry matter of shoots, roots and total. They were then subjected to grinding for performing nutritional analysis. The rest of the plantlets were taken to acclimatization in a greenhouse, where they remained for 45 days. The acclimatization phase followed the same treatments of *in vitro* step, being installed in a randomized block design with eight replications and four plants per plot. At the end of this phase, were made all the aforementioned analysis. After *in vitro* step, it was found that for the majority of the parameters, there was no difference between the commercial and PA products. The contents of N, P and K in the treatments with commercial fertilizers were lower during *in vitro* phase, but there was no difference between treatments during acclimatization. At the end of acclimatization, significant interaction was found for the variables root volume, root dry matter and total dry matter, and granulated sugar associated with commercial minerals caused lower averages for these parameters. For nutritional and physiological parameters, there was no influence of culture media on the plants at the end acclimatization. It was found that the PA minerals salts and PA sucrose can be replaced by commercial products without causing damage to growth and photosynthetic apparatus of plants.

Keywords: *Musa* spp., PA minerals salts, sucrose, granulated sugar, commercial soluble fertilizers.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa a quinta posição entre os países produtores de banana, com uma produção de quase sete milhões de toneladas em 2011 (FAO, 2013). Dentre os maiores produtores estão os estados da Bahia, São Paulo, Minas Gerais, Pará e Santa Catarina, que juntos produziram 4,1 milhões de toneladas naquele ano, ou seja, mais de 60% da produção nacional (IBGE, 2012).

A bananeira (*Musa spp.*) produz um dos frutos mais consumidos no mundo, destacando-se como uma das principais fruteiras tropicais, sendo cultivada em mais de 100 países (FAO, 2013).

Segundo Fioravanço (2003), a banana é uma das frutas mais importantes do mundo, tanto no que se refere à produção quanto à comercialização. Em muitos países, além de participar diretamente na dieta da população, esta fruta representa 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.

Na propagação convencional da bananeira são utilizadas mudas produzidas na própria planta que, de acordo com o tamanho e tipo de folhas presentes são denominadas de chifrinho, chifre e chifrão. Além desses tipos também são usadas mudas do tipo guarda-chuva, rizoma e segmentos de rizoma (Borges et al., 2009).

Para Mendonça et al. (2003), a utilização de mudas de boa qualidade genética e fitossanitária é fundamental para o sucesso da produção agrícola.

Neste sentido, técnicas de biotecnologia estão sendo utilizadas para diversos fins, entre os quais se destacam o melhoramento genético e a micropropagação, que é responsável pela produção de mudas de diversas espécies com fins comerciais (Pereira, 2012).

A micropropagação, também denominada de propagação vegetativa *in vitro*, é a aplicação mais prática e de maior impacto da cultura de tecidos (Grattapaglia e Machado, 1998). As mudas produzidas por esta técnica são geneticamente uniformes, possuem maior vigor, são isentas de inúmeras pragas e doenças e ainda podem ser mais produtivas do que as convencionais (Fancelli, 2003). Segundo Borges et al., (2009), além das vantagens citadas, a micropropagação permite a obtenção de milhares de mudas a partir de uma única planta matriz selecionada. Outro aspecto positivo é a possibilidade de produção o ano todo, uma vez que esta técnica independe de mudanças sazonais.

Na micropropagação da bananeira os explantes mais utilizados são gemas oriundas de rizomas. O processo é realizado em laboratório, sob condições assépticas, utilizando meio de cultivo artificial e sob condições controladas de temperatura, fotoperíodo e luminosidade (Pereira, 2012; Oliveira et al., 2011; Camolesi et al., 2007).

Entre as principais desvantagens da propagação *in vitro* podem ser citados o elevado custo dos reagentes e equipamentos utilizados no processo, as condições ambientais controladas necessárias, a necessidade de mão de obra capacitada, a ausência de protocolos para algumas espécies, a necessidade de longos períodos de pesquisas, a ocorrência de variações somaclonais e o elevado valor final das mudas (Souza et al., 2000; Kozay et al., 1997).

Este trabalho objetivou desenvolver meios de cultivo eficientes e de baixo custo para produção de mudas de bananeira cv. Williams micropropagadas, possibilitando maior acesso dos produtores aos materiais propagativos de alta qualidade e por um preço mais acessível.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos gerais da cultura

As bananeiras pertencem à classe Liliopsida, ordem Scitaminales, família Musaceae, na qual se encontram as subfamílias Heliconioideae, Strelitzioideae e Musoideae. Esta última é caracterizada por seus sistemas foliares serem dispostos em espirais e possuírem flores funcionalmente unissexuais. A subfamília Musoideae é composta por dois gêneros, *Ensete* e *Musa*, sendo este último constituído por quatro seções: *Australimusa*, *Callimusa*, *Rhodochlamys* e *Eumusa* (Simmonds, 1973). *Eumusa* é a seção mais importante por contar com o maior número de espécies do gênero e apresentar ampla distribuição geográfica. Além disso, a seção *Eumusa* abrange as espécies que produzem frutos partenocárpicos, ou seja, frutos comestíveis de polpa abundante que são formados sem que haja a fecundação do óvulo pelo grão de pólen, sendo por esta razão, desprovidos de sementes (Dantas et al., 1999).

A origem da bananeira é bastante controversa. A teoria mais aceita propõe que as primeiras bananas comestíveis teriam sido descobertas na Malásia e foram levadas para Madagascar por volta do século V, de onde se espalharam pelo continente africano (Soluri, 2008). Contudo, estudos recentes de DNA sugerem que os ancestrais das atuais variedades de bananas comestíveis foram cultivados em Papua Nova-Guiné e nas Filipinas, de onde teriam se difundido para Índia, África e Polinésia. Acredita-se que a banana tenha sido trazida à

América do Sul por viajantes polinésios, tendo sido propagada neste continente durante os séculos XVI e XVII (Soluri, 2008).

A bananeira (*Musa* spp.) é uma planta herbácea cultivada em várias regiões tropicais (Silva et al., 2006). Possui tronco curto e subterrâneo denominado rizoma que serve como órgão de reserva para a planta e onde se inserem as raízes adventícias e fibrosas. Da união das bainhas foliares forma-se o pseudocaule, que termina com uma copa de folhas longas e largas, com nervura central desenvolvida (Dantas et al., 1999).

Após a produção de determinado número de folhas, que é variável entre as cultivares, a planta emite no centro da copa uma inflorescência com brácteas ovaladas de coloração normalmente roxo avermelhada, em cujas axilas nascem as flores. Esta inflorescência é uma extensão do rizoma ou caule subterrâneo. Após a gema vegetativa apical se diferenciar em gema floral, não há mais formação de folhas e o crescimento da planta cessa, entretanto esta sobrevive pela formação de novos rebentos na sua base. Quando estão novos, estes rebentos nutrem-se por meio do rizoma principal, e a formação destas brotações permite a constante renovação e a longevidade dos bananais (Manica, 1997).

A inflorescência da bananeira é uma espiga simples formada por um conjunto de flores completas na estrutura, porém com funções unissexuais (Moreira, 1999). Os frutos partenocárpicos são bagas alongadas e triloculares, onde o pericarpo corresponde à casca e o mesocarpo é a polpa comestível (Dantas et al., 1999).

O cacho da bananeira é formado por pedúnculo (engaço), ráquis, pencas (mão), dedos (frutos) e botão floral (coração). O pedúnculo da inflorescência é o alongamento do cilindro central do rizoma, iniciando-se no ponto de fixação da última folha e terminando na inserção da primeira penca (Dantas et al., 1999). Na ráquis, que é a continuação do pedúnculo, são inseridas as flores. A ráquis inicia-se no ponto de inserção da primeira penca e termina no coração, que é um conjunto de pencas de flores masculinas ainda em desenvolvimento e com suas respectivas brácteas. A penca ou mão é o conjunto de frutos ou dedos reunidos pelos seus pedúnculos, em uma estrutura chamada de almofada, em duas fileiras paralelas (Moreira, 1999).

Cada grupo de flores reunidas forma uma penca (mão) com um número variável de frutos (dedos), originados por partenocarpia. Os frutos inicialmente

são verdes, tornam-se amarelos com a maturação e posteriormente começam a escurecer (Dantas et al., 1999).

De acordo com Manica (1997), a temperatura tem grande influência no cultivo da bananeira, afetando diretamente os processos de respiração e fotossíntese da planta. A faixa de temperatura ideal para o desenvolvimento da cultura varia entre 15 e 35°C. Em temperaturas abaixo ou acima deste intervalo, a planta tem seu crescimento drasticamente afetado. Em temperaturas baixas ocorre aumento do ciclo de produção, os tecidos são prejudicados e a polpa não amolece normalmente. Tais danos fisiológicos são conhecidos como *chilling* ou “friagem”. De forma semelhante, temperaturas acima de 35°C, sobretudo quando associadas à seca, causam prejuízos ao desenvolvimento da planta e à qualidade dos frutos (Pereira et al., 2006).

A bananeira é uma cultura exigente em água, sendo o consumo elevado e constante ao longo do ciclo da planta. As maiores produções estão associadas a uma precipitação anual de 1.900 mm, bem distribuída ao longo do ano. A escassez de água torna-se mais grave nas fases de diferenciação floral e no início da frutificação (Borges e Souza, 2004). Sob um regime eficiente de irrigação é possível antecipar a colheita em algumas cultivares, bem como elevar o peso médio dos frutos (Coelho et al., 2008; Bassoi et al., 2001).

O vento é um dos fatores que mais geram danos aos bananais e as perdas de colheita provocadas por eles podem chegar à ordem de 20 a 30% da produção total (Borges e Souza, 2004). Os prejuízos ocasionados pelo vento incluem o *chilling*, a desidratação da planta devido à evapotranspiração elevada, o fendilhamento entre as nervuras das folhas, a diminuição da área foliar, o rompimento das raízes, a quebra e o tombamento da planta (Moreira, 1999).

A bananeira necessita de alta intensidade luminosa para se desenvolver normalmente, contudo, não há influência do comprimento do dia no seu crescimento e na sua frutificação. Em cultivos submetidos à elevada luminosidade, o ciclo vegetativo dura em torno de 8,5 meses, enquanto que em plantas que crescem em pouca luz o ciclo pode chegar a 14 meses. A luz também altera a duração do período de desenvolvimento do fruto. Em regiões com baixa luminosidade, o período para que o cacho atinja o ponto de colheita após a sua emissão chega a ser 30 dias superior quando comparado àqueles de plantas produzidas em regiões de alta luminosidade (Manica, 1997).

2.2. Importância econômica da bananeira

Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação, a banana é a segunda fruta mais consumida no mundo, com consumo aproximado de $10,38 \text{ kg}^{-1} \text{ hab}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, perdendo apenas para a laranja, com $12,83 \text{ kg}^{-1} \text{ hab}^{-1} \text{ ano}^{-1}$. A população da América do Sul é a maior consumidora, com $21,13 \text{ kg}^{-1} \text{ hab}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, seguida pela da América Central e da Oceania, com 13,9 e $11,26 \text{ kg}^{-1} \text{ hab}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, respectivamente (FAO, 2013).

Vieira (2011) afirma que o consumo da fruta vem crescendo anualmente devido ao empenho do setor produtivo que atua na qualificação da produção e do setor mercadológico, que envolve aspectos de apresentação e embalagem, bem como de divulgação dos benefícios gerados para o consumidor. A produção mundial de banana mais que triplicou nos últimos 30 anos, passando de 35 milhões de toneladas em 1979 para 106 milhões de toneladas em 2011, sobretudo devido à expansão nas áreas de plantio e no ganho de produtividade, obtidos ao longo dos últimos anos (Neto e Guimarães, 2011).

A banana é uma fruta de consumo amplamente difundido, sendo comercializada por dúzia, quilo e até mesmo por unidade. É extremamente rica em carboidratos, potássio e fibras solúveis, possui teores médios de açúcares e vitamina A, porém apresenta baixos teores de proteínas e vitaminas B e C. (Jesus et al., 2004; Someya et al., 2002). A banana contém também outros nutrientes como fósforo, cálcio, magnésio, além de possuir excelente sabor, sendo amplamente aceita entre todas as faixas etárias e níveis sociais (Jesus et al., 2004).

O fruto pode ser destinado tanto para consumo *in natura* como para indústria, na forma de fruta desidratada (Almeida, 2011; Santos et al., 2010; Souza, 2002), doces (Godoy, 2010), aguardente (Alvarenga, 2011), banana passa, polpa, entre outros produtos. Além disso, da bananicultura podem ainda ser aproveitados subprodutos como o palmito, as fibras para artesanato, os móveis, os objetos de decoração, o papel e os polímeros naturais (Santana et al., 2008).

De acordo com Neto e Guimarães (2011), a banana, além de servir como alimento básico para milhões de pessoas, possui um excelente valor nutricional, sendo um dos alimentos mais facilmente digeríveis. Estes autores afirmam ainda

que esta fruta também é responsável pelo provimento de alimentação adequada para crianças e idosos, bem como para pessoas com problemas de saúde ou que sofrem de doenças intestinais e que, por essas razões, a cultura da banana representa papel estratégico na segurança alimentar do mundo.

A banana possui características peculiares de aroma e sabor que fazem esta fruta ser bastante apreciada pela grande maioria da população, desde as classes mais baixas até aquelas com alto poder aquisitivo (EMBRAPA, 2009).

Em 2011, foi a fruta mais produzida no mundo (106,5 milhões de toneladas), ocupando o décimo quarto lugar entre as maiores *commodities* mundiais, estando à frente de fruteiras como laranja, maçã e uva em volume de produção (FAO, 2013).

O cultivo da banana está presente em todos os continentes, sendo que a Ásia contribui com 57,86%, as Américas com 26,16% e a África com 14,45% do volume produzido. Na Europa e Oceania, embora haja cultivos da fruta, a produção mundial não alcança 2% (FAO, 2013).

Em 2011, o Brasil foi o quinto maior produtor de banana, produzindo 6,8% do total mundial, ficando atrás da Índia (27,8%), China (10%), Filipinas (8,6%) e Equador (6,9%) (FAO, 2013). Neto e Guimarães (2011) observaram que, em 2011, a área ocupada pela bananicultura no Brasil só foi superada pela área cultivada na Índia e ainda assim a produtividade brasileira se mostra pouco expressiva no ranking mundial entre os países produtores de bananas analisados pela FAO.

Em 2010, as exportações mundiais de banana movimentaram mais de 18 milhões de toneladas vendidas, que totalizaram 8,0 bilhões de dólares. Já nas importações, os mercados adquiriram 17,2 milhões de toneladas, resultando em um montante de 11,7 bilhões de dólares. No Brasil, as exportações de banana em 2010 atingiram 17,4 milhões de toneladas, movimentando 8,0 bilhões de dólares, enquanto que as importações no mesmo ano foram de 17,9 milhões de toneladas, totalizando 11,7 bilhões de dólares (FAO, 2013).

A bananicultura se destaca no cenário nacional devido, entre outros fatores, à grande importância socioeconômica representada pela atividade, que constitui fonte de trabalho e renda para muitos agricultores e desta forma contribui para o desenvolvimento das regiões envolvidas em sua produção (Fioravanço, 2003). O consumo de banana no Brasil é elevado, sobretudo por causa do alto

valor energético da fruta, que também se sobressai dentre as outras pela sua riqueza nutricional (Jesus et al., 2004).

A bananeira é cultivada em todos os estados do Brasil, ocupando uma área de 523.421 ha, com produção estimada em 6,8 milhões de toneladas. Neste contexto a região Nordeste lidera com 35% da produção nacional, seguida do Sudeste (33%), Sul (15%), Norte (11%) e Centro-Oeste (3%). Os maiores produtores são os estados de São Paulo (17,42%), Bahia (15,38%), Santa Catarina (10,07%), Minas Gerais (10,03%) e Pará (7,95%) (IBGE, 2012).

Nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, a banana é consumida como alimento básico, assumindo a mesma importância que tem na África e nos países pobres da Ásia, América Latina e Caribe (Gasparotto et al., 2006; Flori et al., 2004).

O Estado do Rio de Janeiro possui um grande potencial de exploração, entretanto contribui com apenas 2,25% da produção nacional. Em 2012 o Rio de Janeiro produziu 154.272 toneladas de banana em uma área de 23.076 hectares, o que confere ao Estado uma produtividade de 6,68 t ha⁻¹ (IBGE, 2012).

De acordo com Lima et al. (2009), a produção de banana no Rio de Janeiro ocorre em pequenas propriedades, de 10 a 50 ha, contando com um sistema de cultivo extrativista, com poucos tratamentos culturais e praticamente sem nenhum sistema de seleção e beneficiamento. Ainda segundo estes autores a bananicultura é considerada de importância secundária no Estado, sendo praticada principalmente em áreas de declive. O resultado desta forma de manejo é a produção de frutos desuniformes e de qualidade reduzida para o exigente mercado consumidor fluminense.

A maioria das cultivares de bananeira utilizada pelos produtores brasileiros apresenta um baixo potencial de produtividade, além de ser altamente suscetível às principais pragas e doenças, o que tem limitado a ampliação das lavouras no País (Cereja, 2005).

A baixa produtividade da atividade pode estar relacionada ao sistema de cultivo de subsistência adotado na maioria das lavouras do País. Nos últimos anos a bananicultura brasileira não acompanhou os avanços tecnológicos que ocorreram em outros países do mundo. Contudo, nas regiões brasileiras onde os cultivos são tecnificados as produtividades têm sido iguais ou superiores às encontradas nos maiores produtores mundiais, indicando que não há limitações

tecnológicas ou climáticas para a cultura da banana no Brasil (Neto e Guimarães, 2011).

2.3. Cultivares

De acordo com Silva et al. (1997), vários autores têm procurado classificar e descrever as principais cultivares de banana. Ainda de acordo com estes autores, embora exista uma grande quantidade de variedades de banana no Brasil, apenas algumas têm potencial agrônomo para serem comercializadas quando são levados em consideração fatores como produtividade, preferência dos consumidores, tolerância a pragas e doenças, resistência à seca, porte e resistência ao frio.

As bananas comestíveis são originárias de cruzamentos interespecíficos entre *Musa acuminata* (A) e *Musa balbisiana* (B), no entanto, uma terceira espécie pode ter contribuído para a origem dos híbridos. Da combinação entre estes diploides selvagens resultaram os grupos diploides (AA e AB); triploides (AAA, AAB e ABB) e tetraploides (AAAA, AAAB, AABB e ABBB) (Simmonds e Shepherd, 1954).

Existem quatro padrões ou tipos principais de cultivares de bananeira: Prata, Maçã, Cavendish e Terra. Cada tipo conta com uma ou mais cultivares, sendo que Prata, Pacovan, Prata Anã, Maçã, Mysore, Terra, D'Angola, Nanica, Nanicão e Grand Naine são as mais difundidas no Brasil. Dentre elas, Nanica, Nanicão e Grand Naine são destinadas principalmente à exportação, enquanto que as demais são cultivadas predominantemente para o mercado interno (Pereira et al., 2006).

As cultivares do tipo Cavendish (Nanica, Nanicão, Grande Naine e Williams) possuem frutos mais doces e são mais consumidos no Sudeste e Sul do Brasil. As bananas tipo Terra (Terra e D'Angola) são consumidas preferencialmente cozidas ou fritas. A banana 'Maçã' é a preferida pela maioria dos consumidores em razão do seu paladar, obtendo maiores preços no mercado. Todavia, devido à sua alta suscetibilidade ao Mal-do-Panamá, está sendo dizimada de Norte a Sul do Brasil (Silva et al., 2004).

A cultivar Williams, também conhecida como Giant Cavendish, pertence ao tipo Cavendish. É cultivada em maior escala na Austrália e em Honduras e está se tornando conhecida devido à sua boa aceitação no mercado, principalmente no europeu. Possui maior resistência a algumas doenças e também na pós-colheita, garantindo um produto de qualidade para exportação (Kogler, 2006).

A bananeira 'Williams' possui porte intermediário entre a Nanica e a Nanicão, não apresentando diferença significativa em relação à Grand Naine. Suas folhas são mais eretas que as da Nanicão e os cachos podem pesar de 25 kg a 50 kg, com uma produção de 7 a 14 pencas, com 100 a 300 dedos por cacho. É resistente a baixas temperaturas, raramente apresentando sinais de *chilling* (Silva, 2013).

2.4. Propagação da bananeira

A bananeira pode ser propagada de forma sexuada ou assexuada, sendo este último o método mais usual nos plantios comerciais por ser mais eficiente e proporcionar maior rendimento (Alves et al., 2004).

A propagação da bananeira por meio de sementes só é realizada para fins de melhoramento genético, uma vez que as bananas se formam naturalmente por partenocarpia. A fecundação das flores nas bananeiras selvagens é feita normalmente por insetos, em polinização cruzada. Em uma mesma planta, as flores femininas são as primeiras a surgirem na inflorescência e, quando os grãos de pólen das flores masculinas se tornam viáveis para a polinização, os ovários já não estão mais receptivos. A autofecundação só é possível entre perfilhos diferentes de uma mesma planta (Moreira, 1999).

As bananeiras que apresentam frutos comestíveis geralmente não produzem grãos de pólen férteis e os ovários das flores femininas dificilmente podem ser fecundados, devido a um atrofiamento do estigma que impede a passagem do pólen. Entretanto, em casos raros, este atrofiamento pode não ocorrer e a fecundação se processa normalmente, surgindo desta forma sementes férteis (Moreira, 1999).

De acordo com Mendonça et al. (2003), muitas das lavouras de banana utilizam-se de mudas provenientes delas próprias ou de outros bananais já existentes. Como a propagação convencional das bananeiras em grande parte é feita por meio de mudas do próprio campo, estes materiais nem sempre são de boa qualidade ou ainda podem facilitar a disseminação de doenças e pragas para novas áreas (Nakayama, 2012).

Na propagação vegetativa da bananeira, podem ser utilizadas mudas oriundas de gemas desenvolvidas do rizoma, por técnicas de fracionamento de rizoma ou pela utilização da micropropagação (Mendonça et al., 2003). Essas mudas são classificadas de acordo com seu estágio de desenvolvimento, sendo denominadas de chifre, chifrinho, chifrão, pedaço de rizoma, rizoma adulto e guarda-chuva (Nakayama, 2012). Segundo Mendonça et al. (2003), o tipo de muda usado exerce influência direta na duração do primeiro ciclo de produção e no peso médio do cacho.

As mudas de bananeira são classificadas em (Nakayama, 2012; Alves et al., 2004 e Cordeiro, 2003):

- Chifrinho: são mudas com 30 a 40 cm de altura, que apresentam folhas lanceoladas;

- Chifre: são mudas com 50 a 60 cm de altura, que apresentam folhas lanceoladas e um grande diâmetro na base do rizoma. Esse tipo de muda possui excelente pegamento e desenvolvimento uniforme, apresentando ciclo médio de produção e com potencial para produzir cachos grandes com frutos de alta qualidade;

- Chifrão: são mudas com 60 a 150 cm de altura, apresentando uma mistura de folhas lanceoladas com folhas semilargas e com características de plantas adultas. Apresenta grande diâmetro na base do rizoma e um pequeno diâmetro na parte aérea. É um tipo de muda muito utilizado no estabelecimento de plantios comerciais por apresentar bom pegamento e crescimento rápido. As mudas do tipo chifre e chifrão são mais recomendadas nos cultivos comerciais por serem vigorosas, fáceis de transportar e manejar e por produzirem cachos uniformes, grandes e frutos de excelente qualidade. Por serem jovens, esses tipos de mudas não costumam apresentar com frequência problemas com ataque de broca-do-rizoma e nematóides;

- Pedaco de rizoma: são frações de rizomas que contêm pelo menos uma gema intumescida e com peso a partir de 0,8 kg;

- Rizoma adulto: são mudas de rizomas bem desenvolvidos, mas que ainda não apresentam gemas visíveis;

- Guarda-chuva: são mudas com folhas adultas, com rizomas pequenos, que devem ser evitadas por apresentarem ciclos reprodutivos mais longos e possuírem pouca reserva.

Alves et al. (2004) afirmam que deve-se optar por mudas de boa procedência para iniciar o bananal, utilizando preferencialmente aquelas oriundas de propagação *in vitro*, que são produzidas em condições que reduzem os riscos de contaminação por patógenos.

As mudas utilizadas nos plantios devem ser oriundas de viveiros certificados ou de micropropagação, não podendo apresentar sintomas de doenças e presença de plantas daninhas. Além disso, é importante que o bananal não apresente mistura de cultivares, o que reduz a uniformidade dos frutos, bem como não tenha mais de quatro anos, pois, com o aumento da idade as plantas vão perdendo seu vigor (Fancelli, 2003).

Cordeiro e Mesquita (2000) enfatizam que a utilização de mudas de bananeira não certificadas ou de origem desconhecida acarreta em problemas fitossanitários que colocam em risco toda a lavoura, como por exemplo: o Mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum f. sp. cubense*), a broca-do-rizoma (*Cosmopolites sordidus*), os nematoides (*Radopholus similis*, *Helicotylenchus multicinctus*, *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus coffeae*), o moko (*Ralstonia solanacearum*), a podridão-mole (*Erwinia* spp.) e algumas viroses.

A micropropagação consiste em multiplicar *in vitro* segmentos de plantas, denominados de explantes, em meio de cultivo artificial e sob condições controladas de luminosidade, temperatura e fotoperíodo (Borges et al., 2009).

Segundo Pereira (2012), os primeiros relatos sobre a aplicação da micropropagação em espécies do gênero *Musa* ocorreram na década de 60 e muitos trabalhos foram realizados desde então (Bidabadi et al., 2012; Carvalho et al., 2012; Pereira, 2012; Ribeiro et al., 2012; Andrade et al., 2011; Oliveira et al., 2011; Pereira et al., 2011; Pereira et al., 2009; Rios et al., 2008; Bernardi et al., 2004; Santos e Rodrigues, 2004; Debiasi et al., 2002; Braga et al., 2001; Sá e Braga, 2002; Lemos et al., 2001; Mendes et al., 1996; Haridasan e Caldas, 1989).

A micropropagação possui inúmeras vantagens em comparação aos métodos convencionais, como altas taxas de multiplicação em um espaço de tempo reduzido, produção de mudas de maior qualidade fitossanitária, isentas de micro-organismos patogênicos e plantas invasoras. Além disso, esta técnica pode ser muito utilizada para conservação de germoplasma e produção de mudas básicas de novas cultivares de bananeira desenvolvidas pelos programas de melhoramento genético (Souza et al., 2000).

Como principais desvantagens da micropropagação podem ser citados o elevado custo final das mudas, devido à alta tecnologia empregada e à ocorrência de variações somaclonais nas mudas micropropagadas (Fáril e Melo, 1996).

Em levantamento realizado por Carvalho et al. (2011), verificou-se que as espécies frutíferas lideram o mercado brasileiro de plantas propagadas *in vitro*, representando 40,9% do total de mudas produzidas. Dentro deste grupo, a bananeira é a fruteira mais micropropagada, com 76,6% da produção. Entre as principais cultivares destacam-se: Prata Anã, FHIA18, Grande Naine, Maçã, Williams e Caipira. Ainda segundo estes autores, entre os anos de 2009-2010, aproximadamente 7,5 milhões de mudas de bananeira foram produzidas utilizando as técnicas de cultura de tecidos.

Os explantes mais utilizados na propagação *in vitro* da bananeira são ápices meristemáticos retirados de mudas do tipo chifrinho. Neste método, os ápices juntamente com parte do rizoma são levados para o laboratório, onde são cortados, desinfestados e, posteriormente passam por diversas etapas de crescimento e multiplicação até a obtenção das mudas, que são aclimatizadas e, por fim, comercializadas (Borges et al., 2009). Há trabalhos na literatura que utilizam, como explantes, órgãos reprodutivos, como ápices meristemáticos florais (Mahadev et al., 2011; Oliveira e Pereira, 2011). Porém, esse tipo de explante não é utilizado comercialmente por apresentar rendimento inferior em relação aos ápices meristemáticos e não estarem disponíveis o ano todo. Além disso, os protocolos existentes não estão suficientemente detalhados e adequados a determinadas cultivares, o que dificulta sua aplicação em larga escala na produção de mudas de bananeira (Santos-Serejo et al., 2009).

Para a bananeira, Santos-Serejo et al. (2009) compararam os métodos de propagação convencionais e a micropropagação e observaram que esta última é consideravelmente superior aos demais processos no que diz respeito ao número

de mudas obtidas. Esses autores afirmam que, enquanto na propagação vegetativa convencional são necessários 12 meses para a obtenção de 10 a 30 mudas, na micropropagação são obtidas cerca de 10 vezes mais mudas na metade deste tempo.

Diversos trabalhos têm sido desenvolvidos visando à propagação vegetativa *in vitro* em grande escala da bananeira e também à melhoria dos protocolos já existentes. A utilização de biorreatores é uma alternativa bastante promissora e utilizada nas biofábricas pelo fato de acelerar a taxa de multiplicação e reduzir os custos com mão de obra por meio da automatização da etapa de multiplicação (Lemos et al. 2001). Estudos com redução da oxidação (Camolesi et al., 2007) e com desenvolvimento de protocolos eficientes para a micropropagação da bananeira também estão sendo realizados com o objetivo de elevar a produção de mudas e aumentar a qualidade destes materiais (Bidabadi et al., 2012; Carvalho et al., 2012; Pereira, 2012; Andrade et al., 2011; Oliveira et al., 2011; Pereira et al., 2011; Sá e Braga, 2002; Braga et al., 2001).

2.5. Fontes alternativas na micropropagação da bananeira

A micropropagação comercial de plantas já é realidade em várias regiões do mundo, como Europa Ocidental, América do Norte, Ásia, Austrália e Israel. Entretanto, a principal limitação ao uso das mudas produzidas *in vitro*, sobretudo no Brasil, é o custo deste material (Carvalho et al., 2011).

Segundo Erig e Schuch (2005), para que a utilização da micropropagação na produção de mudas se torne viável economicamente é preciso o estudo de métodos que reduzam os custos de produção, que estão associados principalmente: às contaminações *in vitro*; à ocorrência de desordens fisiológicas e morfológicas nas plantas; à baixa percentagem de sobrevivência das plantas na etapa de aclimatização; à necessidade de mão de obra especializada e ao elevado custo de manutenção das salas de crescimento com condições ambientais controladas onde são mantidas as plantas *in vitro*.

Embora apresente inúmeras vantagens, o processo de propagação vegetativa *in vitro* possui alguns obstáculos que interferem na adoção das mudas assim cultivadas pela maioria dos produtores. O custo final deste material é a

principal causa de resistência dos produtores quanto à sua utilização, uma vez que fatores como a infraestrutura dos laboratórios e a necessidade de mão de obra especializada são responsáveis por onerar os gastos do processo de micropropagação (Souza e Junghans, 2006).

Alguns autores têm buscado alternativas para reduzir os custos durante as etapas da propagação de plantas *in vitro*. Com relação ao agente geleificante do meio de cultivo, pesquisas com substituição do ágar por amidos de milho e mandioca mostram que é possível utilizar estas substâncias para solidificar os meios de forma eficiente e sem ocasionar danos às plantas (Oliveira, 2012; Pereira, 2011; Kaçar et al., 2010; Erig et al., 2004; Ferri et al., 1998). Ainda visando eliminar a utilização do ágar como agente geleificante, Andrade et al. (2011) desenvolveram um protocolo eficiente para micropropagação de bananeira em meio de cultivo líquido.

A esterilização dos meios de cultivo e das vidrarias, por meio da autoclavagem, é bastante dispendiosa e contribui para elevar os custos do processo. Além do alto consumo de energia elétrica, as autoclaves são equipamentos caros e por isso a sua substituição por outros métodos de esterilização é alvo de pesquisas envolvendo principalmente o uso de agentes químicos como o hipoclorito de sódio (Oliveira, 2012; Pereira, 2011; Ribeiro e Teixeira, 2007; Teixeira et al., 2005). Em bananeira, diversos trabalhos têm sido realizados com a utilização de compostos químicos em substituição à esterilização física (Pereira et al., 2011; Pereira et al., 2009; Rios et al., 2008).

Pesquisas têm sido feitas no sentido de eliminar ou reduzir o controle das condições ambientais durante o cultivo *in vitro*. Neste sentido, a micropropagação fotoautotrófica, empregando a luz natural, apresenta grande potencial para ajudar a reduzir o custo de produção, além de melhorar as condições fisiológicas das mudas, por tornar a fase de aclimatização menos estressante (Erig e Schuch, 2005). Kodim e Zapata-Arias (2001) obtiveram boas taxas de multiplicação na propagação *in vitro* de bananeira cv. Grande Naine sob luz natural durante o verão, o que não ocorreu no inverno, quando a luminosidade foi menor. Segundo os autores a utilização deste sistema de cultivo depende da espécie, da técnica e das condições climáticas do local.

A sacarose, principal fonte de carboidrato usada na micropropagação, possui duas finalidades básicas: como fonte de carbono e como regulador

osmótico nas células (Thorpe et al., 2008). Depois da água, a sacarose é o ingrediente usado em maior quantidade no meio de cultura, sendo que suas concentrações podem variar desde 15 g L⁻¹ (Schmildt et al., 2007), 20 g L⁻¹ (Lemos et al., 2002; Vettorazzi, 2013) a 60 g L⁻¹ (Nicoloso, et al., 2006; Skrebsky et al., 2006) de acordo com a finalidade do meio.

Bernardi et al. (2004), trabalhando com micropropagação de bananeira cv. Maçã, verificaram que a substituição da sacarose por açúcar cristal como fonte de carbono não interferiu no desenvolvimento das mudas, além de reduzir substancialmente os custos do preparo do meio de cultura.

A utilização de melado de cana-de-açúcar foi satisfatória no enraizamento *in vitro* de bananeira cv. Maçã (Ribeiro et al., 2012). Segundo Prakash et al. (2004), reagentes com alto grau de pureza seriam indispensáveis apenas para estudos de algum fenômeno específico *in vitro*, já para a produção comercial de plantas em laboratório tal grau de pureza não seria necessário desde que sejam adotadas técnicas eficientes de esterilização para a eliminação das contaminações.

2.6. Nutrição mineral da bananeira

A bananeira é uma planta exigente em nutrientes, não só por apresentar rápido desenvolvimento vegetativo com elevada produção de biomassa, mas também por apresentar elevadas quantidades de elementos absorvidos pela planta e exportados pelos frutos. Contudo, é fundamental que haja equilíbrio entre os elementos no solo para o desenvolvimento desta cultura. O excesso de um nutriente pode induzir à deficiência de outro, acarretando em distúrbios fisiológicos na planta, inclusive tornando-a mais susceptível ao ataque de pragas e organismos patogênicos (Silva et al., 1999).

De acordo com Borges et al. (2009) e Cordeiro et al. (2003), a bananeira absorve os seguintes macronutrientes em ordem decrescente: K > N > Ca > Mg > S > P; já entre os micros, a ordem de absorção é: Cl > Mn > Fe > Zn > B > Cu. Já Diniz et al. (1999) encontraram, para a cultivar Prata-Anã cultivada *in vitro*, a seguinte ordem de absorção para os macronutrientes: K > N > Ca > P > Mg = S e para os micronutrientes: Fe > Mn > Zn > B > Cu. Para a cultivar 'Grande Naine',

pertencente ao mesmo grupo da 'Williams, a marcha de absorção de macronutrientes segue: $K > Ca > N > P > Mg$ (Soares et al., 2008).

Já foi demonstrado que a taxa de absorção da maioria dos nutrientes pela bananeira é maior após o quinto mês de cultivo, quando há maior acúmulo de massa da matéria seca, até o florescimento, estabilizando-se até a colheita (Silva, et al., 1999; Borges e Oliveira, 2000).

Segundo Borges e Oliveira (2000), o potássio é considerado o elemento mais importante para a nutrição da bananeira, correspondendo a aproximadamente 41% do total de nutrientes da planta. Segundo os autores, mais de 35% do K absorvido é exportado para o fruto. Santos et al. (2004) observaram aumento significativo no crescimento de mudas de bananeira 'Prata-Anã' oriundas de micropropagação com a aplicação de nitrato de potássio.

Avaliando o desenvolvimento *in vitro* de mudas de bananeiras das cultivares Nanica e Prata-Anã sob diferentes níveis de potássio no meio de cultivo, Zaidan et al. (1999) verificaram que em baixa disponibilidade deste nutriente as plantas apresentaram sintomas como clorose e necrose das folhas velhas. Os autores relataram que houve relação direta entre os diferentes níveis de potássio e o desenvolvimento das mudas, sendo melhores os resultados observados com as concentrações entre 15 e 20 mmol L⁻¹.

Martins et al. (2011) verificaram aumento na produção e na qualidade dos frutos de bananeira cultivar Williams com aplicação de potássio via fertirrigação. Ao avaliar a aplicação de diferentes doses de K e magnésio em bananeira 'Prata-Anã', Silva (2010) verificou que as doses de K aplicadas no solo, já no primeiro ciclo de cultivo, aumentaram o peso do cacho, o número de frutos por cacho, o número de pencas por cacho e o peso do fruto.

O nitrogênio é o segundo elemento mais exigido pela maioria das cultivares de bananeira, sendo superado apenas pelo potássio (Diniz et al., 1999). Constitui um dos componentes mais importantes das células vegetais e um dos que mais limitam o crescimento, participando de funções vitais como produção de nucleotídeos, coenzimas, amidas, aminas, purinas e pirimidinas, alcaloides, vitaminas e pigmentos (Malavolta, 2006).

Perin et al. (2009) relatam que para a bananeira, o nitrogênio é essencial no início do desenvolvimento até a emissão da inflorescência. Diniz et al. (1999) afirmam que existe uma diferenciação quanto à concentração, à extração e ao

acúmulo deste elemento nas partes vegetativas da planta, sendo que o pseudocaule apresenta as maiores concentrações de nitrogênio.

Em bananeira os sintomas de deficiência de nitrogênio apresentam-se como coloração verde-amarela pálida das folhas, pecíolos róseos, redução do tamanho dos cachos e do número de pencas (Borges e Oliveira, 2006). Além destes, Fancelli (2003) enumera outros sintomas em bananeira: redução da distância entre as folhas, criando um aspecto de roseta; afinamento do pseudocaule; bainha com coloração avermelhada e flores pequenas e com baixo período de duração, o que prejudica a produção.

De acordo com Correia (2006), vários fatores influenciam diretamente na absorção dos nutrientes pelas plantas, tais como a concentração e a espécie química na qual os nutrientes estão disponíveis. As formas de nitrogênio nítrica e amoniacal são as mais utilizadas no cultivo *in vitro*. A maior taxa de absorção de nitrogênio ocorre nos primeiros períodos de cultivo, coincidindo com o maior crescimento dos tecidos, devido à intensa absorção de NH_4^+ pelos explantes (Desamero et al., 1993).

Segundo Borges e Oliveira, (2000), o nitrogênio é importante para o crescimento vegetativo da bananeira, sobretudo nos três primeiros meses, quando o meristema está em desenvolvimento. Na bananeira cultivar Prata-Anã, Silva et al. (2012) verificaram que a aplicação de nitrogênio elevou a produção no primeiro ciclo, sendo a ureia a fonte mais eficiente deste nutriente para a cultivar estudada.

A aplicação de nitrogênio na forma de ureia promoveu o enraizamento e alongamento *in vitro* de bananeira cv. Maçã e favoreceu a formação de brotos na cv. Nanicão, embora tenha sido tóxica para as cultivares Prata-Anã e Grande Naine (Ramos et al., 2009).

Segundo Cordeiro et al. (2003), o cálcio é o terceiro macronutriente mais absorvido pela bananeira. Os teores deste nutriente exportados durante a colheita em um bananal podem chegar a 0,22 kg por tonelada de frutos. Sua deficiência em bananeira caracteriza-se por clorose nos bordos foliares, engrossamento das nervuras secundárias, maturação irregular dos frutos, podridão dos frutos, baixos teores de açúcar e pouco aroma nos frutos. O baixo teor de cálcio pode ser uma das causas da formação de “pedras” em banana ‘Maçã’ (Borges et al., 2009).

A deficiência de magnésio em bananeira ocorre nas folhas velhas, manifestando-se como clorose no interior do limbo foliar, enquanto que a nervura central e as bordas permanecem verdes. As bainhas podem desprender-se do pseudocaule, ocorre redução do crescimento e deformações no cacho, que amadurece de maneira desuniforme, a polpa se torna amolecida e com sabor desagradável e há rápido apodrecimento do fruto (Borges e Oliveira, 2006; Fancelli, 2003).

De acordo com Borges e Oliveira (2006), o baixo teor no solo, a acidez, o excesso de potássio na adubação e a seca são fatores que provocam a deficiência de magnésio em plantas de bananeira. Ao se realizar adubações potássicas na bananeira, é necessário que haja quantidades adequadas de magnésio no solo, pois o balanço entre estes dois elementos é fundamental para o desenvolvimento das plantas (Silva et al., 1999).

Silva et al. (2008), avaliando os efeitos da aplicação de potássio, magnésio e calcário sobre o desenvolvimento de mudas de bananeira 'Prata-anã', observaram que doses elevadas de Mg reduziram a produção de massa da matéria seca das mudas, ocorrendo o oposto com o K.

A deficiência de enxofre em bananeira manifesta-se por alterações metabólicas que dificultam a produção de clorofila, prejudicando o desenvolvimento vegetativo da planta. A planta deficiente é caracterizada por clorose generalizada do limbo das folhas jovens e, posteriormente, ocorre necrose das margens das folhas, engrossamento das nervuras e redução do tamanho dos cachos (Borges et al., 2009; Borges, 2004). Em casos mais graves, ocorre a morte da planta devido ao abortamento do ponteiro, causando sérios danos ao bananal (Fancelli, 2003). Esta deficiência pode ser ocasionada pelo baixo teor do elemento no solo, pela acidez, pela lixiviação, pela seca prolongada e pela aplicação de adubos sem o nutriente (Borges e Oliveira, 2006).

Visando avaliar o efeito de diferentes doses de superfostato simples sobre a nutrição de bananeira 'Mysore', Souza et al. (2000) observaram que a aplicação de doses crescentes do adubo não influenciou o crescimento das mudas, bem como não houve influência do enxofre sobre os teores foliares de nitrogênio, potássio e magnésio.

O fósforo é necessário em pequenas quantidades para a cultura da bananeira, contudo, a sua ausência reduz o crescimento tanto da parte aérea

quanto do sistema radicular das plantas. Os sintomas de deficiência em bananeira incluem: clorose marginal em folhas velhas, em forma de dentes de serra; pecíolos quebradiços e baixo teor de açúcar nos frutos (Borges, 2004). Também pode ocorrer uma coloração verde-escura tendendo a azulada das folhas (Borges e Oliveira, 2006). Segundo Borges e Oliveira (2006), baixas concentrações deste elemento no solo, pela sua menor disponibilidade e pelo baixo pH são as principais causas da deficiência de P na bananeira.

Em experimento para avaliar a marcha de absorção de nutrientes por explantes de bananeira 'Prata-Anã, verificou-se que o fósforo foi o elemento absorvido mais rapidamente, sendo que 75% do teor inicial foi absorvido nos primeiros 30 dias de cultivo *in vitro*. No mesmo experimento, constatou-se que as folhas foram os órgãos que mais acumularam este nutriente (Diniz et al., 1999).

Com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes doses de N, P e K na produção e qualidade da bananeira 'Prata-Anã, Maia et al. (2003) verificaram que as doses de fósforo não mostraram efeito significativo sobre os parâmetros: massa do cacho, número de pencas por cacho, massa média da penca, número de frutos por cacho, massa média dos frutos, comprimento e diâmetro dos frutos. Os autores atribuem este fato ao baixo requerimento do nutriente pela cultura, como afirmado por Borges (2004). Crisostomo et al. (2008) também não observaram influência nos teores foliares de fósforo em bananeira 'Pacovan' após a aplicação deste nutriente no solo.

De acordo com Souza e Neto (2003), entre os micronutrientes, o boro e o zinco são os que mais limitam a produção da bananeira, sendo os que promovem com maior frequência os sintomas de deficiência.

Em bananeira, a deficiência de boro dificulta o desenvolvimento de brotações e ocasiona deformações morfológicas nas folhas novas. Outros sintomas estão associados à deficiência deste elemento em bananeira, como necrose nas margens das folhas, clorose internerval e estrias perpendiculares às nervuras na superfície abaxial, além do aparecimento de filhotes com os sintomas ainda mais acentuados. Em casos extremos, a planta tem seu crescimento paralisado (Moreira et al., 2010). Outros sintomas incluem goma no pseudocaule, deformações no cacho e redução do número e tamanho dos frutos (Borges, 2004). Segundo Malavolta (2006), a deficiência de boro em bananeira reduz a resistência do pseudocaule e pecíolos, levando à deterioração das bases das

folhas novas e reduzindo o crescimento radicular, podendo ocasionar a morte das raízes.

Rodrigues (2006) observou redução do ciclo de produção da bananeira promovido pelo fornecimento de boro diretamente no rizoma. Contudo, Nomura et al. (2011) relataram que não houve influência deste nutriente no desenvolvimento e na produção de plantas de bananeira 'Grande Naine', em nenhuma das doses testadas. Visando avaliar os efeitos da adubação com boro em plantas de bananeira do subgrupo Cavendish, Moreira et al. (2010) constataram que a aplicação deste nutriente influenciou de forma positiva a produtividade, a relação polpa/casca e a resistência dos frutos.

Na produção *in vitro* de mudas de bananeira são utilizados meios de cultivo que são combinações de sais minerais (macro e micronutrientes), carboidratos, vitaminas e reguladores de crescimento, com a presença ou ausência de um agente geleificante. Eles devem fornecer às culturas as substâncias essenciais para o desenvolvimento dos tecidos e a sua constituição é baseada nas exigências das plantas quanto aos nutrientes minerais, com algumas modificações para atender as necessidades específicas (Souza et al., 2006).

Segundo Correia (2006), na maioria das vezes os meios de cultivo para propagação de plantas *in vitro* são escolhidos de forma empírica, não apresentando especificidade quanto às exigências nutricionais das espécies. Ainda segundo a autora, é comum o uso de uma única formulação de nutrientes em todas as fases de cultivo, sendo que o crescimento das plantas nas diferentes etapas da micropropagação pode ser negativamente influenciado por estas formulações.

A maioria das pesquisas com cultivo *in vitro* tem utilizado o meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962), que se caracteriza por apresentar concentração iônica total elevada, pois os teores de nitrogênio, potássio, zinco e cloro são maiores em comparação a outros meios de cultura (Leifert et al., 1995).

De acordo com Correia (2006), diferenças nas condições fisiológicas e ambientais entre plantas *in vitro* e *in vivo* interferem na absorção de nutrientes. Essas diferenças relacionam-se com o tipo de material vegetal, as condições ambientais de cultivo e a composição química e física do meio de cultura.

O meio MS é o mais usado na micropropagação da bananeira (Carvalho et al., 2012; Pereira, 2012; Oliveira et al., 2011; Camolesi et al., 2007) e, para

preparar este meio as biofábricas utilizam sais minerais PA. Segundo Prakash et al. (2004), a utilização de reagentes PA no preparo de meios nutritivos para o cultivo de plantas deve-se ao fato de conterem quantidades reduzidas de impurezas, o que reduz a influência de outras substâncias químicas no desenvolvimento das plantas cultivadas. Entretanto, grande parte dos componentes dos meios de cultura é disponibilizada comercialmente, apresentando a mesma concentração do nutriente e com baixo custo de aquisição.

Os adubos minerais solúveis possuem potencial para serem utilizados no preparo dos meios de cultivo. Neste sentido, devido à enorme demanda de meio de cultura nas biofábricas, a substituição dos sais PA por adubos comerciais, contribuiria significativamente na redução do custo de produção de mudas micropropagadas.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral:

Desenvolver meios de cultivo eficientes e de baixo custo para produção de mudas de bananeira cv. Williams micropropagadas, possibilitando maior acesso dos produtores aos materiais propagativos de alta qualidade e por um preço mais acessível.

3.2. Específicos:

- Avaliar a substituição dos sais minerais PA por adubos comerciais no preparo dos meios de cultivo nas fases de multiplicação e enraizamento *in vitro* das brotações;

- Avaliar a substituição da sacarose PA por açúcar cristal como fonte de carbono no preparo dos meios de cultivo nas fases de multiplicação e enraizamento *in vitro* das brotações;

- Avaliar a taxa de multiplicação dos explantes a cada subcultivo;

- Avaliar o desenvolvimento de raízes nas brotações obtidas;

- Avaliar os parâmetros biométricos, fisiológicos e nutricionais das mudas obtidas ao final do período de cultivo *in vitro* nos meios alternativos;

- Avaliar os parâmetros biométricos, fisiológicos e nutricionais das mudas após a etapa de pré-aclimatização.

4. MATERIAL E MÉTODOS

A etapa *in vitro* do experimento foi conduzida no Laboratório de Fitotecnia (LFIT), Setor de Horticultura. A fase de aclimatização foi realizada em casa de vegetação com cobertura de plástico (100 μm) e Sombrite® 70% na Unidade de Apoio à Pesquisa (UAP), do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), em Campos dos Goytacazes – RJ. O município se situa na latitude 21° 45' S e na longitude 41° 20' W e possui altitude média de 11 metros.

4.1. Multiplicação *in vitro*

As mudas de bananeira cv. Williams estavam no terceiro subcultivo e foram oriundas do Instituto Biosomática, situado na cidade de Holambra – SP.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 2 x 2, sendo duas fontes de sais minerais e duas fontes de carbono, com 15 repetições. Cada parcela foi constituída por um frasco contendo quatro brotações, totalizando 60 explantes por tratamento.

Os meios de cultivo foram compostos pelos sais de MS e vitaminas de White (Murashige e Skoog, 1962), 30 g L⁻¹ de sacarose, 8 g L⁻¹ de ágar, 11,1 μmol L⁻¹ de BA (benziladenina) e pH 5,7 aferido antes da adição do ágar. Foram utilizadas duas fontes de sais minerais no experimento, seguindo as mesmas

proporções do meio MS: sais minerais PA e sais minerais comerciais. Como fonte de carbono foram utilizados sacarose PA e açúcar cristal. Os tratamentos foram:

- T1 – Meio MS com sais minerais PA + sacarose PA (controle);
- T2 - Meio MS com sais minerais PA + açúcar cristal;
- T3 - Meio MS com sais minerais comerciais + sacarose PA;
- T4 - Meio MS com sais minerais comerciais + açúcar cristal.

Foram colocados 40 mL de meio em frascos de cultivo de 65 x 125 mm, que posteriormente foram submetidos à esterilização em autoclave a 1,0 atm e 121°C por 20 minutos.

A relação dos sais do meio de cultivo MS e dos adubos comerciais utilizados, com as respectivas concentrações, está descrita na Tabela 1.

Tabela 1. Relação dos sais PA e dos produtos comerciais utilizados no preparo dos meios de cultivo para multiplicação e enraizamento *in vitro* das brotações de bananeira, com as respectivas concentrações.

Elemento	Concentração			Fonte	
	mmol L ⁻¹	Sais PA (g L ⁻¹)	PC (g L ⁻¹)	Meio MS	PC
N	41,20 de N	1,6500	0,9220	NH ₄ NO ₃	Nitrato de Amônio*
P/K	1,25	0,1700	0,1480	KH ₂ PO ₄	FertiMAP*
K/N	18,80	1,9000	1,9700	KNO ₃	FertiNK*
Mg/S	1,50	0,3700	0,4050	MgSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de Magnésio*
Ca	3,00	0,4400	0,4400	CaCl ₂ .2H ₂ O	Cloreto de Cálcio**
B	0,10.10 ⁻³	0,0062	0,0064	H ₃ BO ₃	FertiBORO*

MS: Meio de cultivo Murashige e Skoog (1962); PC: Produto comercial; Sais PA: sais puros para análise utilizados no preparo dos meios de cultivo convencionais. * Marca Heringer, ** Marca Cálciosol

Em câmara de fluxo laminar, as brotações foram retiradas dos frascos de origem e separadas. Retiraram-se os tecidos necrosados, as raízes existentes e as folhas mais longas com auxílio de bisturi, deixando as brotações com cerca de 2,0 a 2,5 cm de altura. Este procedimento foi realizado cuidadosamente para não ocasionar danos às regiões basais de onde cresceriam as novas brotações. Após

a limpeza, o material foi pesado em balança de precisão e colocaram-se quatro brotações em cada frasco com o meio de multiplicação, que posteriormente foi tampado com filme PVC.

Os frascos com as brotações foram mantidos na sala de cultivo à temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$ e irradiância de $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fornecida por lâmpadas fluorescentes (OSRAM[®], luz do dia) e fotoperíodo de 16:8 h (luz:escuro).

A cada 30 dias foram feitos os subcultivos. Em câmara de fluxo laminar, os frascos foram abertos e as brotações foram contadas, pesadas em balança de precisão e, em seguida, individualizadas com auxílio de bisturi. Objetivando favorecer o desenvolvimento de brotações laterais, foi realizada a quebra da dominância apical das brotações a partir do segundo subcultivo. Este procedimento foi feito por meio da inserção da lâmina do bisturi na base da brotação, no sentido vertical.

Após a retirada dos tecidos necrosados e o corte de folhas e raízes, as brotações foram pesadas novamente para avaliar o seu crescimento entre os subcultivos.

O meio de cultivo foi trocado a cada subcultivo, mantendo a mesma composição e os tratamentos propostos. Nos novos meios foram adicionadas quatro brotações por frasco. Este procedimento foi repetido a cada 30 dias durante três meses.

4.2. Enraizamento *in vitro* das brotações

Após 90 dias de multiplicação *in vitro* as brotações formadas foram transferidas para o meio de enraizamento, de mesma composição que o de multiplicação, exceto pela ausência do BA.

A etapa de enraizamento foi conduzida em delineamento inteiramente casualizado mantendo o esquema fatorial 2×2 , com 14 repetições, cada uma sendo constituída por um frasco com quatro brotações. Os tratamentos foram os mesmos da etapa de multiplicação.

Em câmara de fluxo laminar, as brotações foram retiradas do meio de multiplicação, separadas e pesadas. As que possuíam sistema radicular

desenvolvido foram podadas com auxílio de bisturi para posterior avaliação do desenvolvimento deste nos meios alternativos.

Os frascos com as brotações foram levados para sala de cultivo, nas condições anteriormente descritas, onde permaneceram por 30 dias.

Ao final da fase de enraizamento *in vitro*, 40% das mudas de cada tratamento foram avaliadas em relação aos parâmetros número de folhas, massa da matéria fresca total, fluorescência da clorofila *a*, teores de pigmentos fotossintéticos, índice fotossintético, volume radicular e massas das matérias secas da parte aérea, das raízes e total. Em seguida foram submetidas à moagem para realização das análises nutricionais.

A ocorrência de contaminações ao longo da etapa *in vitro* foi baixa, sendo perdidos apenas cinco frascos em todo o processo devido à presença de contaminantes fúngicos.

4.3. Pré-aclimatização das mudas

Após um mês em meio de enraizamento *in vitro*, os 60% restantes das mudas de cada tratamento foram pré-aclimatizados em casa de vegetação nas condições descritas anteriormente.

O experimento foi instalado em delineamento em blocos casualizados com quatro tratamentos e oito repetições. Cada parcela constituiu-se de quatro plantas e os tratamentos foram os mesmos da etapa *in vitro*.

As mudas foram retiradas dos frascos e lavadas cuidadosamente para remoção dos resíduos de meio de cultivo aderido ao sistema radicular. Foi feita uma poda nas raízes, de modo a eliminar aproximadamente $\frac{3}{4}$ do comprimento inicial.

Para o plantio das mudas foi utilizada uma mistura do substrato comercial Basaplant Hortaliças[®] com pó de fibra de coco Golden Mix[®], na proporção de 1:1 (v:v). A esta mistura foram adicionados 150 g de adubo NPK (20-20-20) e 150 g de adubo peletizado de liberação lenta Osmocote[®] (17-07-12). Após lavagem e poda das raízes as mudas foram colocadas em bandejas plásticas modelo 2236 da Nutriplan[®] com capacidade de 258 mL por célula, contendo este substrato fertilizado.

As mudas foram mantidas por sete dias em casa-de-vegetação com sistema de nebulização intermitente com jatos de 30 segundos a cada 15 minutos, de modo que a umidade relativa foi mantida em torno de 90%. Após este período a irrigação passou a ser diária, até a saturação completa do substrato.

Após 45 dias foram avaliados: taxa de sobrevivência, número de folhas, altura das plantas, diâmetro do pseudocaule, fluorescência da clorofila *a*, índice fotossintético, teores de pigmentos fotossintéticos, área foliar, massa da matéria fresca da parte aérea, massas das matérias secas da parte aérea, da raiz e total, volume radicular e teores de nutrientes.

4.4. Determinação da sobrevivência

Este parâmetro foi determinado pela contagem das mudas de cada tratamento que sobreviveu após os 45 dias de aclimatização. Este valor foi dado em porcentagem sobre o total de plantas.

4.5. Determinação da altura da planta

Para a determinação da altura das plantas utilizou-se uma régua graduada, posicionada na base da planta e medindo a altura da folha-bandeira.

4.6. Diâmetro do pseudocaule

O diâmetro do pseudocaule foi medido com auxílio de um paquímetro digital, sendo as medições sempre realizadas na altura da base da planta.

4.7. Determinação da fluorescência da clorofila *a* e índice fotossintético

A fluorescência da clorofila *a* e o índice fotossintético (PI) foram determinados por meio de um fluorímetro não-modulado modelo Pocket PEA Chlorophyll Fluorimeter (Hansatech Instruments – King's Lynn, Norfolk).

Com o auxílio de pinças, uma folha de cada planta foi adaptada ao escuro por 30 minutos para que todos os centros de reação do fotossistema II (PSII) adquirissem a condição de “abertos” e a perda de calor fosse mínima. Todas as medições foram realizadas entre 9h e 10h da manhã. A fluorescência inicial (F_0) foi obtida com luz modulada de baixa intensidade ($< 0,1 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$) para não induzir efeito na fluorescência variável. A fluorescência máxima (F_m) foi determinada por um pulso de luz saturante de 0,3 s de duração, com frequência de 20000 Hz. A fluorescência variável (F_v) foi determinada pela diferença entre F_0 e F_m . Esse pulso permite o fechamento dos centros de reação do PSII. Com os valores de F_v e F_m foi obtida a relação F_v/F_m .

4.8. Determinação dos teores de pigmentos fotossintéticos

A intensidade de cor verde das folhas foi determinada por meio do medidor portátil de clorofila modelo SPAD-502 (Chlorophyll Meter – Minolta, Japão). As medidas foram realizadas em três pontos diferentes da folha, sendo utilizada a folha onde foram determinados a fluorescência da clorofila *a* e o PI.

Os teores de pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, *b*, clorofila total e carotenoides) foram determinados de acordo com a metodologia de Wellburn (1994). Seis discos foliares com $0,6 \text{ cm}^2$ de diâmetro foram colocados em tubos de ensaio contendo 4,0 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) como solvente orgânico. Os tubos de ensaio, recobertos com papel alumínio, foram mantidos no escuro a fim de se evitar a degradação dos pigmentos pela ação da luz durante o período de extração. Após 24 horas, o extrato foi analisado em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 480, 649 e 665 nm. A partir dos dados obtidos foram calculadas as razões clorofila *a/b* e clorofila total/carotenoides. Todos os procedimentos laboratoriais foram realizados em um ambiente de pouca luz para evitar degradação dos pigmentos. Todos os discos foliares foram coletados das

folhas usadas para medir a fluorescência da clorofila *a*, o índice fotossintético e o SPAD.

4.9. Determinação da área foliar

A área foliar foi medida com o auxílio do aparelho modelo Licor 3100, cuja leitura se dá em tempo real, ou seja, a área é medida no momento em que a folha passa pelo sensor. Seu visor apresenta medidas de no mínimo 1mm² e resolução de até 0,1mm² (LI-COR, 1996).

4.10. Determinação do volume de raízes

O volume de raízes foi dado com auxílio de uma proveta com volume inicial de água conhecido. Imediatamente após a separação da parte aérea, as raízes foram completamente submersas na proveta, sendo considerado seu volume total o deslocamento da água na proveta.

4.11. Determinação da massa da matéria seca

As plantas foram divididas em sistema radicular e parte aérea, acondicionadas separadamente em sacos de papel identificados e foram submetidas à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 50°C por 72 horas para determinação da massa da matéria seca.

4.12. Análises nutricionais

Após a secagem, as folhas foram moídas em moinho do tipo Wiley, com peneira de 20 *mesh*. Em seguida, o material moído foi submetido à digestão sulfúrica combinada com peróxido de hidrogênio para a determinação do teor de nitrogênio (N) pelo método de Nessler (Malavolta et al., 1997).

Para a determinação dos teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S) e boro (B) o material foi submetido à uma pré-digestão com 2,0 mL de ácido nítrico (65%) e 2,0 mL de peróxido de hidrogênio (30%) por pelo menos quatro horas. Em seguida as amostras foram aquecidas a 100°C por uma hora, com aumento gradual da temperatura em aproximadamente 20°C por hora até atingir 160°C. Alcançada esta temperatura, deixou-se evaporar todo o líquido e em seguida foram adicionados 10,0 mL de ácido nítrico 0,5%. Os tubos foram agitados e, após 24 horas de repouso, o sobrenadante foi coletado para quantificação dos teores de nutrientes em ICPE-9000 (Plasma Atomic Emission Spectrometer) (Peters, 2005).

Os conteúdos de cada mineral foram estimados por meio da multiplicação da massa da matéria seca da parte aérea pelo teor do nutriente considerado.

4.13. Monitoramento das temperaturas máxima e mínima e umidade relativa

As medições de temperatura (Figura 1) e umidade relativa (Figura 2) no período de aclimatização das mudas foram feitas pelo aparelho Datalogger Kimo - Kistock KM 110 instalado na casa de vegetação.

4.14. Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos às pressuposições para análise da variância, averiguando-se a normalidade pelo teste de Lilliefors e a homogeneidade pelos testes de Cochran & Bartlett. Não havendo restrições, a análise de variância foi realizada de acordo com os delineamentos anteriormente descritos e os dados foram submetidos à comparação de médias pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) utilizando o programa SAEG[®] (SAEG, 2007).

Para as médias referentes ao número de brotações na fase *in vitro*, optou-se pela análise descritiva com médias e erro padrão, uma vez que foram observados muitos valores nulos, devido à ausência de brotações.

Para os dados referentes à avaliação dos pigmentos fotossintéticos, tanto na etapa *in vitro* quanto na aclimatização, foram realizadas transformações

logarítmicas - $\log(x+1)$, pois estes não atenderam às pressuposições de normalidade e homogeneidade das variâncias. Esses dados foram reconvertidos para apresentação no texto.

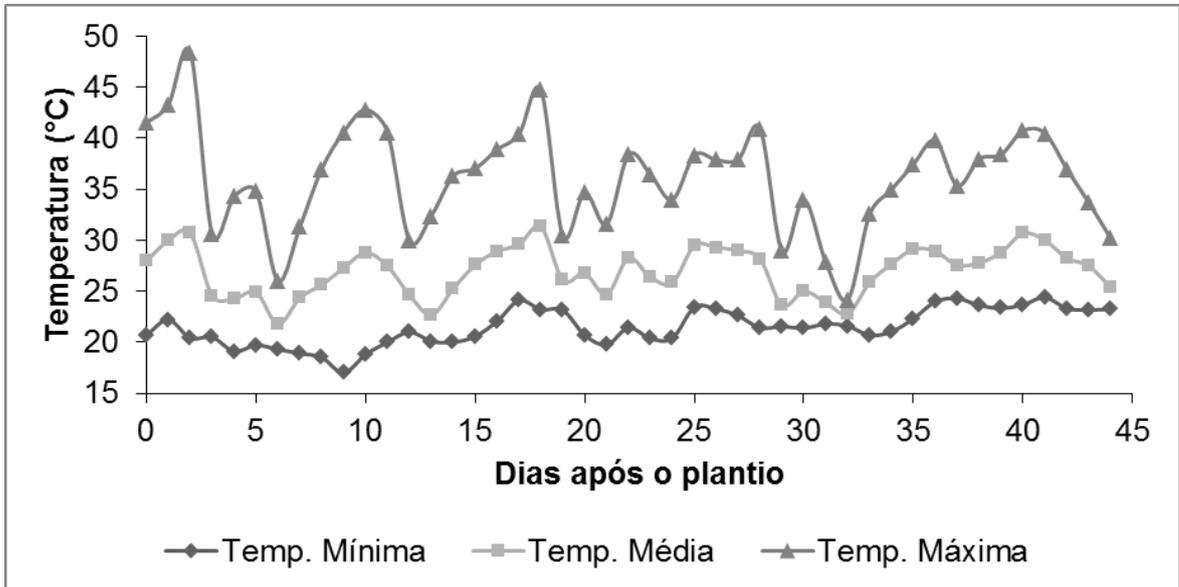


Figura 1. Temperaturas mínimas, médias e máximas diárias registradas em casa de vegetação no período de 25 de setembro a 10 de dezembro de 2013, Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.

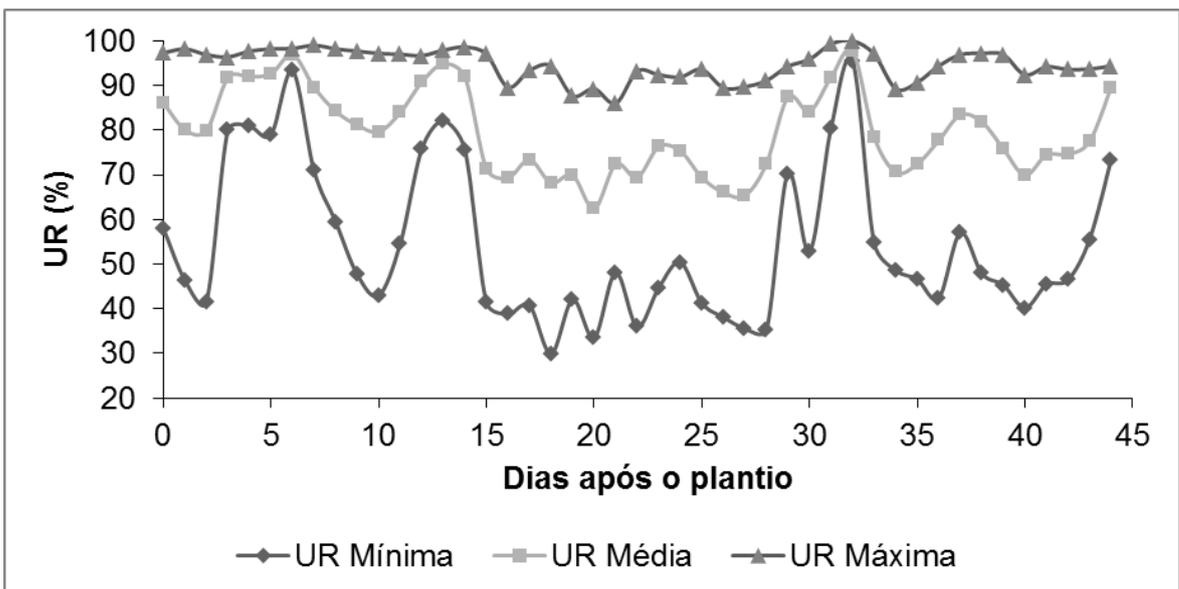


Figura 2. Umidades relativas mínimas, médias e máximas diárias registradas em casa de vegetação no período de 25 de setembro a 10 de dezembro de 2013, Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Experimento *in vitro*

5.1.1. Crescimento e multiplicação

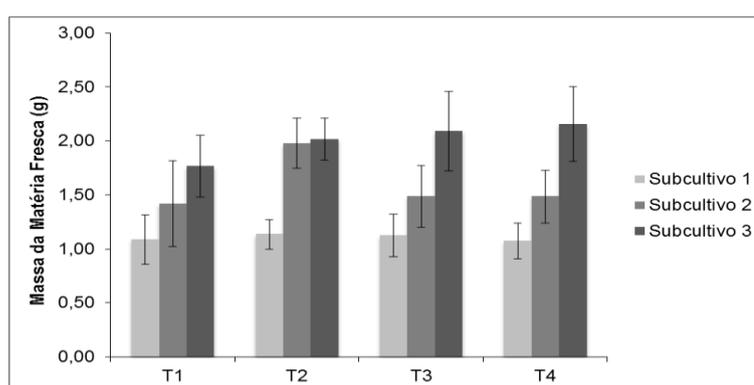
De acordo com a análise de variância para crescimento das brotações a cada subcultivo realizado (Tabela 2), é possível observar, ao longo de três meses de cultivo *in vitro*, que os fatores sais minerais e sacarose não apresentaram significância para a variável massa da matéria fresca das brotações, e ainda não houve interação entre estes dois fatores. Este resultado indica que os adubos comerciais e o açúcar cristal usados no preparo do meio de cultivo não interferiram nesta variável.

Tabela 2. Resumo da análise de variância para a variável massa da matéria fresca (g) em função das fontes de sais e sacarose usados no preparo do meio de cultivo para bananeira 'Williams', aos 30, 60 e 90 dias de subcultivo *in vitro*, Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio		
		Subcultivo 1	Subcultivo 2	Subcultivo 3
Sais (S)	1	0,2912 ^{ns}	0,6395 ^{ns}	0,7625 ^{ns}
Sacarose (Sac)	1	0,5615 ^{ns}	1,0949 ^{ns}	0,3535 ^{ns}
S x Sac	1	0,3396 ^{ns}	1,0917 ^{ns}	0,1218 ^{ns}
Resíduo	53	0,9931	0,2482	0,2938
CV (%)		28,46	31,11	26,83
Média Geral		1,1072	1,6014	2,0202

^{ns} – Não significativo pelo teste F ($P \leq 0,05$)

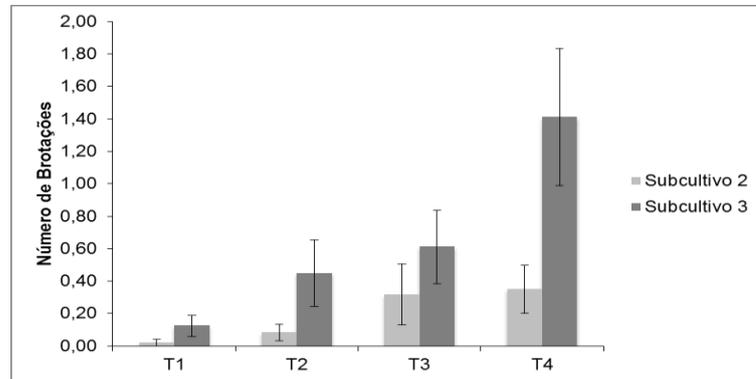
Para melhor visualização deste resultado, a Figura 3 mostra o crescimento das brotações de acordo com os tratamentos nos três subcultivos realizados. Observa-se uma tendência de maior acúmulo de matéria fresca no terceiro subcultivo para todos os tratamentos. Este fato ocorreu provavelmente devido à maior adaptação das plantas aos meios ao longo do tempo, uma vez que no primeiro subcultivo a média de crescimento se mostrou uniforme e baixa entre os tratamentos.



Legenda: T1 – sais minerais PA + sacarose PA; T2 - sais minerais PA + açúcar cristal; T3 – sais minerais comerciais + sacarose PA; T4 – sais minerais comerciais + açúcar cristal.

Figura 3. Médias e intervalo de confiança para Massa da Matéria Fresca de mudas de bananeira 'Williams' aos 30, 60 e 90 dias de multiplicação *in vitro*.

Com relação à taxa de multiplicação, foi feita uma análise descritiva dos dados, sendo esta apresentada na Figura 4.



Legenda: T1 – sais minerais PA + sacarose PA; T2 - sais minerais PA + açúcar cristal; T3 – sais minerais comerciais + sacarose PA; T4 – sais minerais comerciais + açúcar cristal.

Figura 4. Médias e erro padrão do Número de Brotações desenvolvidas em explantes de bananeira 'Williams aos 60 e 90 dias de multiplicação *in vitro*.

De modo geral, o número de novas brotações formadas a cada subcultivo foi baixo para todos os tratamentos. A maior média, aproximadamente 1,4 brotações para cada brotação inicial, foi observada no tratamento composto por adubos comerciais e açúcar cristal. A maior quantidade de brotações surgiu durante o terceiro subcultivo.

Não é possível afirmar se essa baixa taxa de multiplicação foi devida aos tratamentos aos quais as plantas foram expostas ou a alguma falha na quebra da dominância apical. Este procedimento é comum em biofábricas e foi realizado neste experimento com o mesmo objetivo, aumentar o número de brotações laterais. Porém, observou-se que esta quebra foi bem-sucedida apenas em algumas plantas, onde surgiram inúmeras brotações após 30 dias, enquanto que a maioria crescia em haste única.

Contudo, como mostrado na Figura 4, as plantas oriundas do tratamento com sais minerais comerciais e açúcar cristal (T4) apresentaram maior taxa de multiplicação, havendo expressiva diferença entre este e o controle, com sais minerais e sacarose PA.

5.1.2. Enraizamento das brotações

Segundo a análise de variância para os dados referentes à massa da matéria fresca acumulada pelas brotações durante o enraizamento *in vitro*, não se constatou diferença significativa para as fontes de sais minerais e carbono (Tabela 3).

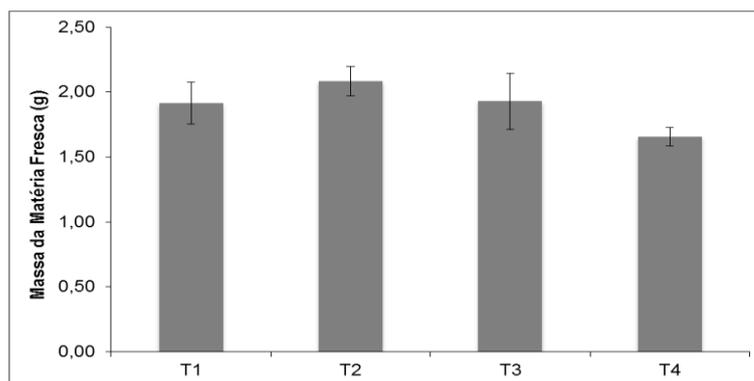
Tabela 3. Resumo da análise de variância para a variável massa da matéria fresca total (g) em função das fontes de sais e sacarose usados no preparo do meio de cultivo para bananeira 'Williams', após 30 dias de enraizamento *in vitro*. Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio
		Enraizamento
Sais (S)	1	0,2587 ^{ns}
Sacarose (Sac)	1	0,1679 ^{ns}
S x Sac	1	0,2932 ^{ns}
Resíduo	20	0,1354
CV (%)		19,43
Média Geral		1,89

^{ns} – Não significativo pelo teste F ($P \leq 0,05$)

Na Figura 5 é possível visualizar as médias de crescimento das brotações após os 30 dias de enraizamento. Esse resultado mostra que os produtos comerciais usados em substituição aos PA não influenciaram o enraizamento das plantas.

Não houve influência dos meios de cultivo no crescimento das plantas durante as etapas de multiplicação e enraizamento *in vitro* para a bananeira 'Williams' nas condições deste experimento.



Legenda: T1 – sais minerais PA + sacarose PA; T2 - sais minerais PA + açúcar cristal; T3 – sais minerais comerciais + sacarose PA; T4 – sais minerais comerciais + açúcar cristal.

Figura 5. Médias e erro padrão da Massa da Matéria Fresca de mudas de bananeira 'Williams' após 30 dias de enraizamento *in vitro*.

5.1.3. Análises biométricas

A análise de variância para as variáveis biométricas das mudas de bananeira ao final do cultivo *in vitro* mostra que para a variável área foliar houve efeito significativo em relação às fontes de sais minerais, enquanto que para número de folhas o efeito significativo foi em relação à fonte de carbono. Para as demais variáveis, não foram verificadas diferenças significativas (Tabela 4).

Tabela 4. Resumo da análise de variância para as variáveis biométricas em função das fontes de sais e sacarose usados no preparo do meio de cultivo para bananeira 'Williams', após 120 dias de cultivo *in vitro*. Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio			
		NF	VR	MF	AF
Sais (S)	1	0,9401 ^{ns}	0,9401 ^{ns}	0,7691 ^{ns}	153,7805*
Sacarose (Sac)	1	2,5026*	0,1465 ^{ns}	0,7642 ^{ns}	9,9634 ^{ns}
S x Sac	1	0,6510 ^{ns}	0,5753 ^{ns}	0,4340 ^{ns}	6,0136 ^{ns}
Resíduo	20	0,4088	0,4279	0,1958	389,1923
CV (%)		11,26	25,04	16,95	23,51
Média Geral		5,67	0,83	2,61	18,76

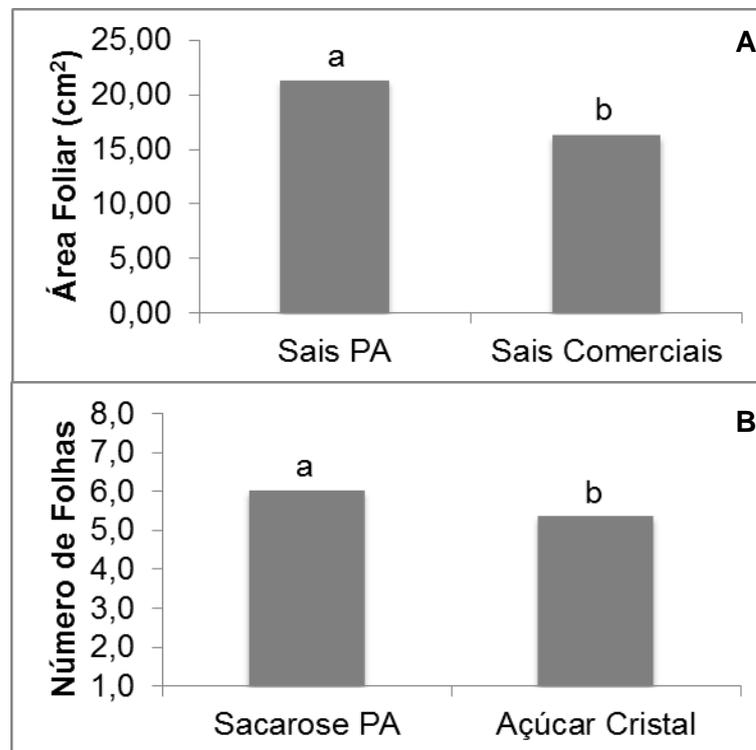
^{ns} – Não significativo; * - Significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; CV (%) – Coeficiente de Variação; NF – Número de Folhas; VR – Volume de Raiz (cm³); MF – Massa da Matéria Fresca (g); Área Foliar (cm²).

Tabela 4, Cont.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio		
		MSPA	MSR	MST
Sais (S)	1	0,4855 ^{ns}	0,2975 ^{ns}	0,4125 ^{ns}
Sacarose (Sac)	1	0,4179 ^{ns}	0,1392 ^{ns}	0,7473 ^{ns}
S x Sac	1	0,1834 ^{ns}	0,4770 ^{ns}	0,1651 ^{ns}
Resíduo	20	0,4507	0,8234	0,8192
CV (%)		13,41	24,59	14,66
Média Geral		0,16	0,03	0,19

^{ns} – Não significativo; * - Significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; CV (%) – Coeficiente de Variação; MSPA – Massa da Matéria Seca da Parte Aérea (g); MSR – Massa da Matéria Seca de Raiz (g); MST – Massa da Matéria Seca Total (g).

De acordo com a Figura 6, os sais minerais PA proporcionaram maior área foliar às plantas em relação às cultivadas no meio com adubos comerciais. Já em relação às fontes de carbono, o meio utilizando açúcar cristal ocasionou menor número de folhas nas plantas (Figura 6).



As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Figura 6. Área foliar (A) e Número de folhas (B) em mudas de bananeira 'Willians' após 120 dias de cultivo *in vitro*.

Embora os produtos comerciais tenham ocasionado a redução no número de folhas e na área foliar, tal resultado não causou prejuízo ao crescimento das plantas. Este fato pode ser comprovado pela não diferença entre os demais parâmetros avaliados, como, por exemplo, a massa da matéria seca (Tabela 4).

Bernardi et al. (2004), testando alternativas de baixo custo para micropropagação de bananeira cv. Maçã, verificaram que a taxa de multiplicação *in vitro* dos explantes foi semelhante nos meios de cultivo utilizando sacarose PA e açúcar cristal e inferior com açúcar mascavo. Eles concluíram ainda que o desempenho em campo das mudas produzidas não sofreu influência dos meios de cultivo, pois não foram observadas diferenças entre a sacarose PA e o açúcar cristal para nenhuma das características avaliadas.

Já Ribeiro et al. (2012) não obtiveram êxito com a utilização de melado de cana-de-açúcar na propagação *in vitro* de bananeira cv. Maçã. Segundo os autores, o melado não favorece o desenvolvimento das plantas, pois eleva as taxas de oxidação destas, sobretudo quando usado em altas concentrações.

De acordo com Oliveira et al. (2007), o açúcar comercial possui elevada pureza, em torno de 99,70% de sacarose, enquanto que a sacarose PA possui em torno de 99,94% de pureza. Esta elevada pureza do produto comercial favoreceu o desenvolvimento *in vitro* das plantas, não havendo restrições ao seu uso no preparo do meio de cultivo para micropropagação da bananeira 'Williams'.

5.1.4. Análise nutricional

A análise de variância apresentada na Tabela 5 mostra que não houve interações significativas para os teores nutricionais em função das fontes de sais e carbono, indicando diferenças significativas para nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e magnésio.

Tabela 5. Resumo da análise de variância para nutrientes minerais em função das fontes de sais e sacarose usados no preparo do meio de cultivo para bananeira 'Williams', após 120 dias de cultivo *in vitro*. Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio			
		N	P	K	Ca
		g kg ⁻¹			
Sais (S)	1	114,8000**	2,0416**	18,9037*	7,7976**
Sacarose (Sac)	1	0,7884 ^{ns}	0,2481 ^{ns}	18,9037*	0,3226 ^{ns}
S x Sac	1	0,2220 ^{ns}	0,3840 ^{ns}	10,5337 ^{ns}	0,1233 ^{ns}
Resíduo	20	0,5474	0,1084	3,3707	0,4803
CV (%)		6,12	9,99	4,89	12,34
Média Geral		12,09	3,29	37,54	5,62

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio		
		Mg	S	B
		g kg ⁻¹		mg kg ⁻¹
Sais (S)	1	2,8085**	0,1751 ^{ns}	9,2504 ^{ns}
Sacarose (Sac)	1	0,3037 ^{ns}	0,5042 ^{ns}	6,9337 ^{ns}
S x Sac	1	0,3300 ^{ns}	0,1276 ^{ns}	31,5104 ^{ns}
Resíduo	20	0,1148	0,4775	23,1495
CV (%)		4,77	6,03	14,36
Média Geral		2,25	3,59	33,48

^{ns} – Não significativo; * - Significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; ** - Significativo pelo teste F a 1% de probabilidade; CV (%) – Coeficiente de Variação; N – Nitrogênio; P – Fósforo; K – Potássio; Ca – Cálcio; Mg – Magnésio; S – Enxofre; B – Boro

Os teores de nitrogênio, fósforo e potássio foram inferiores nas plantas cultivadas nos meios usando adubos comerciais. Já cálcio e magnésio apresentaram níveis superiores nas plantas mantidas nesses meios (Tabela 6).

Tabela 6. Teores de nutrientes minerais em função das fontes de sais em folhas de bananeira após 120 dias de cultivo *in vitro*. Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.

Fontes minerais	Nutrientes						
	N	P	K	Ca	Mg	S	B
	g kg ⁻¹						mg kg ⁻¹
Sais PA	14,28 A	3,58 A	38,43 A	5,04 B	1,90 B	3,68 A	34,11 A
Sais comerciais	9,91 B	3,00 B	36,65 B	6,18 A	2,58 A	3,51 A	32,86 A

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). N – Nitrogênio; P – Fósforo; K – Potássio; Ca – Cálcio; Mg – Magnésio; S – Enxofre; B – Boro

O nitrogênio é um dos nutrientes minerais exigidos em maior quantidade pelas plantas, sendo considerado o principal componente de aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, clorofilas e coenzimas (Marschner, 1995). Segundo Evans (1989), o teor de nitrogênio nas plantas está altamente correlacionado com a concentração de clorofilas. Embora os sais comerciais utilizados no preparo do meio de cultura tenham ocasionado teor de nitrogênio inferior em comparação aos reagentes PA, uma das principais funções deste elemento, que é a produção de moléculas de clorofila, não foi afetada (Tabela 8, item 5.1.5).

De acordo com Marschner (1995), o fósforo faz parte de compostos fosfatados (ATP e ADP), ácidos nucleicos, coenzimas e fosfolipídios. Como este elemento é necessário em pequenas quantidades para a cultura da bananeira (Borges, 2004), a pequena redução nos teores observada nas plantas provenientes dos meios preparados com fontes minerais comerciais não ocasionou sintomas de deficiência.

Quanto às fontes de carbono, houve diferença significativa apenas para o potássio, que apresentou níveis inferiores nas plantas cultivadas em açúcar cristal. Para os demais nutrientes não foi verificada diferença estatística entre as duas fontes (Tabela 7).

Tabela 7. Teores de nutrientes minerais em função das fontes de carbono em folhas de bananeira após 120 dias de cultivo *in vitro*. Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.

Fontes de carbono	Nutrientes						
	N	P	K	Ca	Mg	S	B
	g kg ⁻¹						mg kg ⁻¹
Sacarose PA	11,92 A	3,39 A	38,43 A	5,57 A	2,24 A	3,60 A	34,03 A
Açúcar cristal	12,27 A	3,19 A	36,65 B	5,65 A	2,26 A	3,59 A	32,95 A

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). N – Nitrogênio; P – Fósforo; K – Potássio; Ca – Cálcio; Mg – Magnésio; S – Enxofre; B – Boro

O potássio está envolvido na abertura e no fechamento dos estômatos, na regulação osmótica e no balanço iônico, além de ser um ativador de enzimas (Marschner, 1995). Segundo Borges e Oliveira (2000), o K é considerado o elemento mais importante para a nutrição da bananeira, correspondendo a aproximadamente 41% do total de nutrientes da planta.

5.1.5. Análises fisiológicas

A Tabela 8 apresenta a análise de variância para as variáveis fisiológicas das mudas ao final da etapa *in vitro* do experimento, não sendo observadas significâncias dos fatores para estes parâmetros.

Tabela 8. Resumo da análise de variância para as variáveis fisiológicas em função das fontes de sais e sacarose usados no preparo do meio de cultivo para bananeira 'Williams', após 120 dias de cultivo *in vitro*. Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio		
		F _v /F _m	PI	SPAD
Sais (S)	1	0,2767 ^{ns}	0,7138 ^{ns}	62,0816 ^{ns}
Sacarose (Sac)	1	0,2646 ^{ns}	0,5797 ^{ns}	24,4016 ^{ns}
S x Sac	1	0,2567 ^{ns}	0,2933 ^{ns}	81,4016 ^{ns}
Resíduo	20	0,2773	0,6487	65,2440
CV (%)		21,37	45,05	27,64
Média Geral		0,77	1,52	29,23

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio		
		Ca	Cb	Ct
Sais (S)	1	6765,973 ^{ns}	1050,833 ^{ns}	13149,69 ^{ns}
Sacarose (Sac)	1	10267,65 ^{ns}	3765,364 ^{ns}	26468,68 ^{ns}
S x Sac	1	2071,074 ^{ns}	1073,662 ^{ns}	6127,106 ^{ns}
Resíduo	17	2613,678	3970,230	10095,31
CV (%)		4,14	8,63	4,23
Média Geral		231,45	133,72	365,16

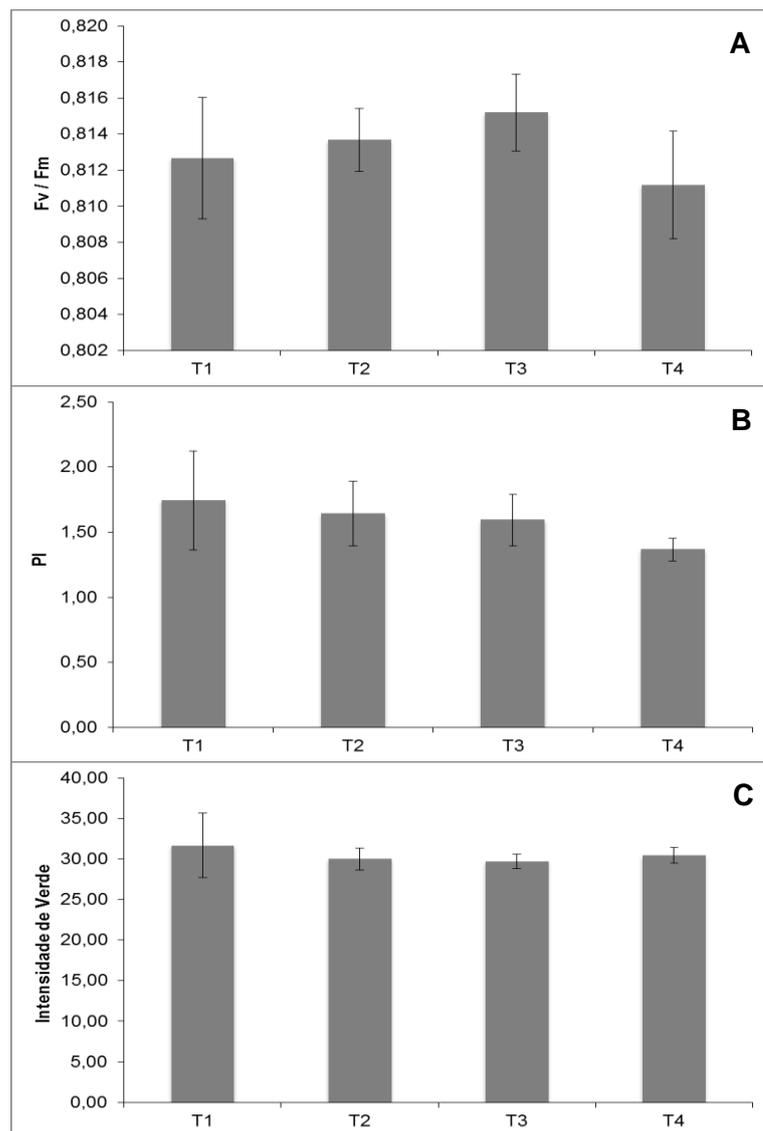
Fonte de variação	GL	Quadrado Médio		
		Ca/Cb	Car	Ct/Car
Sais (S)	1	0,7969 ^{ns}	203,0009 ^{ns}	473,8574 ^{ns}
Sacarose (Sac)	1	0,2937 ^{ns}	59,97403 ^{ns}	742,9674 ^{ns}
S x Sac	1	0,3293 ^{ns}	10,33175 ^{ns}	760,7703 ^{ns}
Resíduo	17	0,6802	62,99377	5628,453
CV (%)		24,45	36,24	22,87
Média Geral		1,94	9,40	76,27

^{ns} – Não significativo; F_v/F_m – Fluorescência da Clorofila *a*; SPAD – Intensidade de Verde; PI – Índice Fotossintético; Ca – Clorofila *a* (μmol m⁻²); Cb – Clorofila *b* (μmol m⁻²); Ct – Clorofila total (μmol m⁻²); Ca/Cb – Relação Clorofila *a*/Clorofila *b*; Car - Carotenoide (μmol m⁻²); Ct/Car – Relação Clorofila total/Carotenoide

Na Figura 7 encontra-se a eficiência fotoquímica do fotossistema II, ou relação F_v/F_m. Segundo Bolhàr-Nordenkampf et al. (1989) e Bolhàr-Nordenkampf e Öquist (1993), a eficiência quântica do fotossistema II varia de 0,75 a 0,85 em plantas que não estão submetidas a estresse. Observando-se a Figura 7 verifica-se que todas as plantas estão situadas dentro da faixa aceitável, sendo possível

afirmar que elas estão em boas condições e não estiveram submetidas a estresse durante o período em que foram mantidas nos meios de cultivos alternativos.

A fluorescência da clorofila *a* é considerada uma importante ferramenta, pois permite avaliar precocemente se uma planta está submetida a diferentes tipos de estresse, antes que os sintomas se tornem evidentes, como clorose, redução do crescimento e murcha das folhas (Torres Netto et al., 2005).



Legenda: T1 – sais minerais PA + sacarose PA; T2 - sais minerais PA + açúcar cristal; T3 – sais minerais comerciais + sacarose PA; T4 – sais minerais comerciais + açúcar cristal.

Figura 7. Médias e erro padrão da Relação Fv/Fm (A), do Índice Fotossintético (PI) (B) e da Intensidade de Verde (SPAD) (C) em mudas de bananeira 'Williams após 120 dias de cultivo *in vitro*.

A utilização das variáveis de emissão da fluorescência da clorofila é um método não destrutivo eficiente, pois permite analisar qualitativa e quantitativamente a absorção e o aproveitamento da energia luminosa por meio do fotossistema II, que está altamente correlacionado com o rendimento fotossintético das plantas (Torres Netto et al., 2005). O declínio da relação F_v/F_m é um bom indicador de dano foto inibitório quando as plantas estão sujeitas a estresses do ambiente, incluindo frio (Backer et al., 1983) e seca (Ögren e Öquist, 1985).

A variável PI, ou índice fotossintético permite avaliar o índice de vitalidade de uma planta (Strasser et al., 2004; Strasser et al., 2000). Segundo Strasser et al. (2000), o PI é um índice que engloba três componentes independentes: densidade dos centros de reação ativos (CRs), eficiência no transporte de elétrons após Qa ter sido reduzida e a probabilidade de que um fóton absorvido seja capaz de reduzir Qa.

Na Figura 7 (B) é possível visualizar que não houve diferença estatística entre os tratamentos. Uma vez que o PI pode identificar alterações precoces no desempenho fotossintético das plantas (Ripley et al., 2004) pode-se afirmar que as mudas de bananeira cultivadas *in vitro* não sofreram danos decorrentes das fontes de sais minerais e carbono alternativas utilizadas.

O índice fotossintético é utilizado para estimar a atividade dos fotossistemas I e II e, conseqüentemente avalia o desempenho de uma planta sob condições de estresse (Strasser et al., 2004). Em plantas submetidas a estresse hídrico, a variável PI mostrou-se mais confiável do que a relação F_v/F_m para avaliar a eficiência fotoquímica em genótipos de trigo (Zivcak et al., 2008; Strasser et al., 2000).

A Figura 7 (C) refere-se à intensidade de verde nas folhas de bananeira após o cultivo *in vitro*. Como dito anteriormente, não foram constatadas diferenças significativas na coloração das plantas, ao contrário, nota-se uma grande uniformidade entre os tratamentos.

O medidor portátil de clorofila SPAD-502 é eficiente para avaliar indiretamente a quantidade de clorofila presente nas folhas, sendo conseqüentemente um bom indicador do estado fotossintético de plantas (Ling et al., 2011; Torres Netto et al., 2005; Torres Netto et al., 2002). Desta forma, pode-se sugerir que, uma vez que todas as plantas apresentaram intensidades de

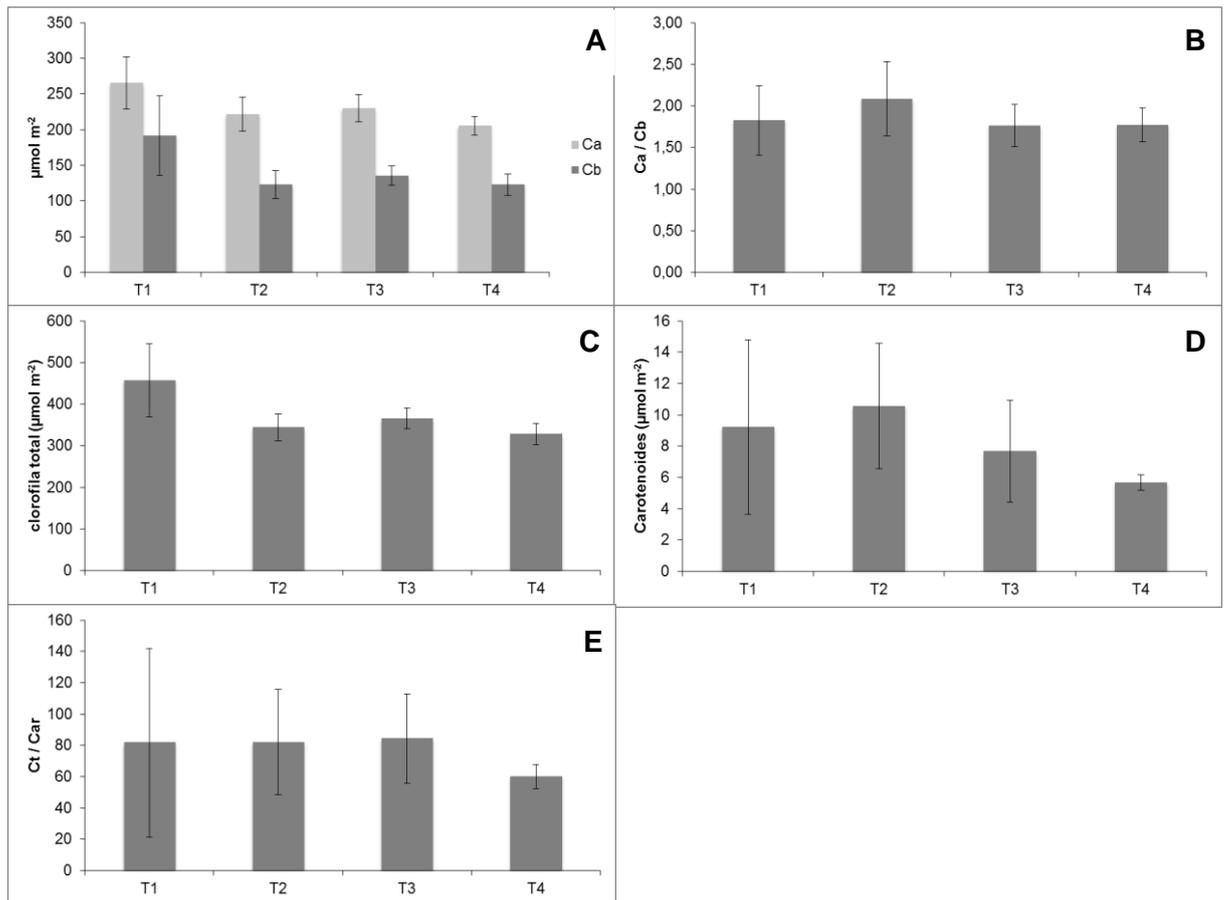
verde semelhantes, os tratamentos a que elas foram expostas *in vitro* não interferiram no seu aparato fotossintético.

Os resultados encontrados na medição indireta feita com o SPAD foram confirmados pelos dados obtidos na análise direta dos pigmentos fotossintéticos, que não apresentaram significância para os fatores fontes de sais e de carbono (Figura 8). Sendo assim, não foi observada diferença entre os tratamentos para os teores de clorofilas *a* e *b*, carotenoides e suas respectivas relações.

As clorofilas são os pigmentos naturais mais abundantes presentes nas folhas, sendo a clorofila *a* presente em todos os organismos que realizam fotossíntese, participando da fase fotoquímica, enquanto os demais pigmentos (clorofila *b* e carotenoides) participam na absorção de luz (Taiz e Zeiger, 2013).

Os valores de intensidade de verde encontrados nas mudas, aproximadamente 30,00, foram superiores aos encontrados por Moraes (2012), ao trabalhar com micropropagação de bananeira 'Tropical' em biorreator de imersão temporária (Figura 7). A autora verificou que a média do índice SPAD ficou em torno 25,25 nas plantas após o cultivo *in vitro*.

Na Figura 8 é possível notar que a relação Ct/Car entre os tratamentos apresenta certa uniformidade, indicando que os produtos comerciais usados no meio de cultivo não afetaram o aparato fotossintético das plantas, confirmando o que havia sido inferido por meio do índice SPAD.



Legenda: T1 – sais minerais PA + sacarose PA; T2 - sais minerais PA + açúcar cristal; T3 – sais minerais comerciais + sacarose PA; T4 – sais minerais comerciais + açúcar cristal.

Figura 8. Médias e erro padrão das Clorofilas a e b (A); relação Clorofila a/Clorofila b (B); Clorofila total (C), Carotenoides (D) e relação Clorofila total/Carotenoides (E) em folhas de bananeira ‘Williams após 120 dias de cultivo *in vitro*.

Os dados obtidos para desenvolvimento *in vitro* das mudas neste experimento possibilitam afirmar que, ao final da etapa *in vitro*, não houve diferença entre as plantas micropropagadas em meio de cultivo preparado com reagentes PA e aquelas cultivadas nos meios alternativos propostos para a maioria dos parâmetros analisados. Quando presentes, as diferenças estatísticas verificadas não foram responsáveis por uma redução significativa no desenvolvimento das mudas.

5.2. Pré-aclimatização das mudas

A taxa de sobrevivência das mudas após os 45 dias de aclimatização foi de 100% para todos os tratamentos aplicados.

5.2.1. Análises biométricas

A análise de variância apresentada na Tabela 9 mostra que houve interações significativas para as variáveis volume de raízes, massa da matéria seca de raiz e massa da matéria seca total. Para área foliar e matéria seca da parte aérea houve efeito significativo em relação às fontes de sais. Para as demais variáveis não foram constatadas diferenças.

Tabela 9. Resumo da análise de variância para as variáveis biométricas em função das fontes de sais e sacarose usados no preparo do meio de cultivo para bananeira 'Williams', após 45 dias de aclimatização. Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio		
		NF	AP	DP
Sais (S)	1	0,17795 ^{ns}	3,06049 ^{ns}	0,19603 ^{ns}
Sacarose (Sac)	1	0,12946 ^{ns}	0,26016 ^{ns}	0,24183 ^{ns}
S x Sac	1	1,11222 ^{ns}	0,39570 ^{ns}	0,51065 ^{ns}
Resíduo	27	0,28397	2,87397	0,46904
CV (%)		6,37	14,98	6,57
Média Geral		8,36	11,31	10,41

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio		
		VR	MFPA	AF
Sais (S)	1	1,9503 ^{ns}	5,14186 ^{ns}	2290,0519*
Sacarose (Sac)	1	10,5225 ^{ns}	1,66387 ^{ns}	394,8427 ^{ns}
S x Sac	1	38,5003*	0,12902 ^{ns}	35,13625 ^{ns}
Resíduo	27	3,0515	1,60195	520,7059
CV (%)		25,11	19,01	17,53
Média Geral		6,95	6,65	130,10

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio		
		MSPA	MSR	MST
Sais (S)	1	0,95468*	0,2527 ^{ns}	0,2337 ^{ns}
Sacarose (Sac)	1	0,24317 ^{ns}	0,3699 ^{ns}	0,1165 ^{ns}
S x Sac	1	0,95192 ^{ns}	0,2610*	0,3847**
Resíduo	27	0,19476	0,2329	0,7064
CV (%)		17,43	31,63	20,79
Média Geral		0,80	0,48	1,28

^{ns} – Não significativo; * - Significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; ** - Significativo pelo teste F a 1% de probabilidade; CV (%) – Coeficiente de Variação; NF – Número de Folhas; AP – Altura da Planta (cm); DP – Diâmetro do Pseudocaule (mm); VR – Volume de Raiz (cm³); MFPA – Matéria Fresca da Parte Aérea (g); Área Foliar (cm²); MSPA – Matéria Seca da Parte Aérea (g); MSR – Matéria Seca de Raiz (g); MST – Matéria Seca Total (g)

Como se observa na Figura 9, os sais comerciais reduziram a área foliar, e consequentemente a massa da matéria seca da parte aérea nas plantas.

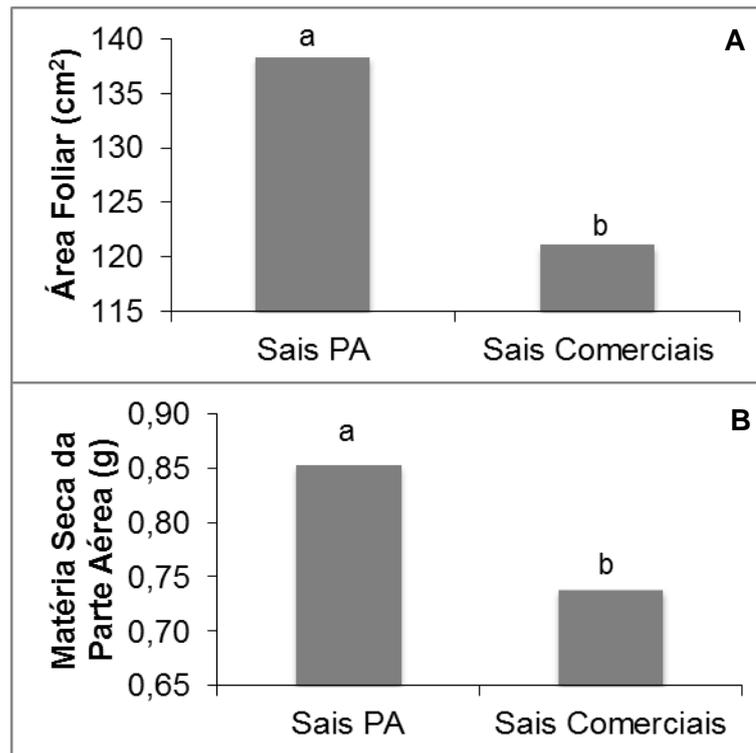


Figura 9. Área foliar (A) e Massa da Matéria Seca da Parte Aérea (B) em mudas de bananeira 'Willians' após 45 dias de aclimatização.

De acordo com a Tabela 10, o uso da sacarose PA, independente da fonte de sais minerais não afetou o volume radicular e as massas das matérias secas de raízes e total. Já o açúcar cristal associado aos sais minerais comerciais ocasionou médias inferiores para estes três parâmetros.

Tabela 10. Volume de Raízes (VR), Massa da Matéria Seca de Raiz (MSR) e Massa da Matéria Seca Total (MST) em função das fontes de sais e sacarose em mudas de bananeira após 45 dias de aclimatização. Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.

	VR (cm ³)		MSR (g)		MST(g)	
	Sais 1	Sais 2	Sais 1	Sais 2	Sais 1	Sais 2
Sacarose 1	5,53 Ab	7,23 Aa	0,40 Ab	0,53 Aa	1,27 Aa	1,32 Aa
Sacarose 2	8,87 Aa	6,18 Ba	0,61 Aa	0,37 Bb	1,45 Aa	1,06 Ba

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. 1 – Produto PA; 2 – Produto comercial

A sacarose PA foi inferior ao açúcar cristal nos meios preparados com sais minerais PA para volume de raízes e matéria seca de raízes. Já nos meios utilizando sais comerciais a sacarose PA foi superior ao açúcar para esta última variável (Tabela 10).

5.2.2. Análise nutricional

A análise de variância apresentada na Tabela 11 mostra que não foram verificadas diferenças significativas para os nutrientes minerais em função das fontes de sais e de carbono utilizados nos meios de cultivo.

Tabela 11. Resumo da análise de variância para nutrientes minerais em função das fontes de sais e sacarose usados no preparo do meio de cultivo para bananeira 'Williams', após 45 dias de aclimatização. Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio			
		N	P	K	Ca
		$g\ kg^{-1}$			
Sais (S)	1	1,3613 ^{ns}	0,4886 ^{ns}	113,537 ^{ns}	0,2291 ^{ns}
Sacarose (Sac)	1	0,5364 ^{ns}	0,1377 ^{ns}	29,2635 ^{ns}	0,8370 ^{ns}
S x Sac	1	2,2927 ^{ns}	0,1466 ^{ns}	6,6600 ^{ns}	0,1056 ^{ns}
Resíduo	27	1,3002	0,1858	40,1773	1,2086
CV (%)		10,60	7,34	20,63	12,95
Média Geral		10,75	5,87	30,71	8,48

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio		
		Mg	S	B
		$g\ kg^{-1}$		$mg\ kg^{-1}$
Sais (S)	1	5,5525 ^{ns}	0,1186 ^{ns}	1,6842 ^{ns}
Sacarose (Sac)	1	5,4223 ^{ns}	0,3463 ^{ns}	8,6467 ^{ns}
S x Sac	1	0,1037 ^{ns}	0,9222 ^{ns}	1,0604 ^{ns}
Resíduo	27	2,1804	0,2597	4,1891
CV (%)		19,75	9,43	12,53
Média Geral		7,47	1,70	16,33

^{ns} – Não significativo; CV (%) – Coeficiente de Variação; N – Nitrogênio; P – Fósforo; K – Potássio; Ca – Cálcio; Mg – Magnésio; S – Enxofre; B – Boro

Há uma escassez muito grande de pesquisas envolvendo a nutrição mineral de plantas *in vitro*, o que dificulta a comparação dos resultados obtidos com outros trabalhos.

Apesar de ter ocorrido redução nos teores de N, P e K durante a fase *in vitro* nas plantas cultivadas em meios com sais minerais comerciais, observa-se que durante a aclimatização isso não se repetiu, o que indica uma correção dos nutrientes durante esta fase. Assim sendo, os sais minerais comerciais podem ser utilizados em substituição aos sais PA sem prejuízo no teor de nutrientes nas mudas ao final da aclimatização, ou seja, no momento de sua comercialização.

5.2.3. Análises fisiológicas

A Tabela 12 apresenta a análise de variância para as variáveis fisiológicas das mudas após o período de aclimatização. Como se observa, não foram constatadas diferenças significativas para nenhum parâmetro em função das fontes de sais e de carbono usados no meio de cultivo.

Tabela 12. Resumo da análise de variância para as variáveis fisiológicas em função das fontes de sais e sacarose usados no preparo do meio de cultivo para bananeira 'Williams', após 45 dias de aclimatização. Campos dos Goytacazes – RJ, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio		
		F _v /F _m	PI	SPAD
Sais (S)	1	0,8646 ^{ns}	0,1356 ^{ns}	19,4222 ^{ns}
Sacarose (Sac)	1	0,7222 ^{ns}	0,1648 ^{ns}	5,9379 ^{ns}
S x Sac	1	0,6032 ^{ns}	0,3585 ^{ns}	0,7629 ^{ns}
Resíduo	27	0,3901	0,8398	25,7011
CV (%)		2,59	55,05	16,76
Média Geral		0,76	0,52	30,23

^{ns} – Não significativo; F_v/F_m – Fluorescência da Clorofila a; PI – Índice Fotossintético; SPAD – Intensidade de Verde.

Tabela 12, Cont.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio		
		Ca	Cb	Ct
Sais (S)	1	793,6781 ^{ns}	28,6006 ^{ns}	1123,6070 ^{ns}
Sacarose (Sac)	1	2294,2250 ^{ns}	69,5563 ^{ns}	3162,7250 ^{ns}
S x Sac	1	86,5435 ^{ns}	34,9801 ^{ns}	11,4817 ^{ns}
Resíduo	27	2393,386	1035,6290	5929,0250
CV (%)		16,36	17,57	14,34
Média Geral		80,21	55,05	135,27

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio		
		Ca/Cb	Car	Ct/Car
Sais (S)	1	0,3929 ^{ns}	10,9001 ^{ns}	372,4086 ^{ns}
Sacarose (Sac)	1	0,1228 ^{ns}	47,7902 ^{ns}	679,9953 ^{ns}
S x Sac	1	0,1602 ^{ns}	0,4953 ^{ns}	141,7437 ^{ns}
Resíduo	27	0,2907	25,6568	686,0070
CV (%)		21,18	28,85	19,89
Média Geral		1,51	6,56	26,60

^{ns} – Não significativo; Ca – Clorofila a ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$); Cb – Clorofila b ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$); Ct – Clorofila total ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$); Ca/Cb – Relação Clorofila a/Clorofila b; Car – Carotenoide ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$); Ct/Car – Relação Clorofila total/Carotenoide

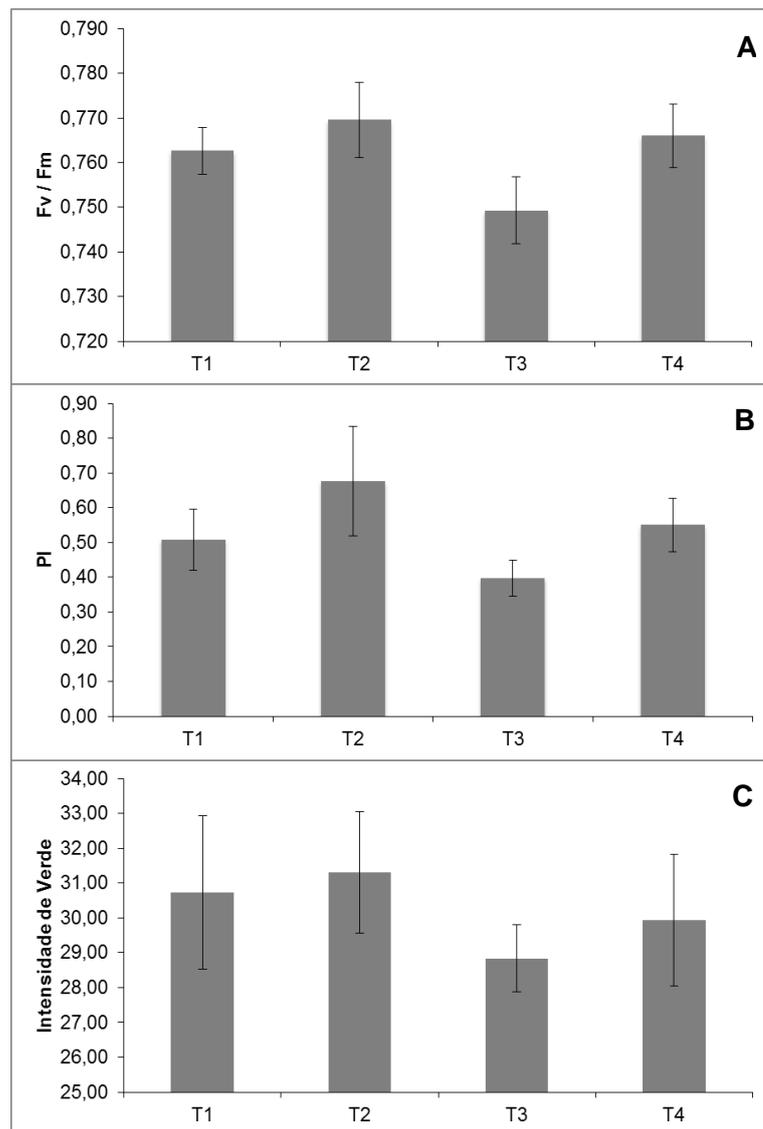
A Figura 10 (A) mostra as médias da eficiência fotoquímica do fotossistema II. Observa-se que os valores estão dentro da faixa considerada normal (0,75 a 0,85), mantendo a mesma resposta das plantas logo após o período de cultivo *in vitro*.

Nota-se que as plantas oriundas do tratamento contendo sais minerais comerciais e sacarose PA (T3) apresentaram relação F_v/F_m próxima ao limite inferior, evidenciando uma redução em relação àquelas cultivadas *in vitro*. Toyoda et al. (2010) também observaram redução de F_v/F_m em plantas de abacaxizeiro transferidas da condição *in vitro* para aclimatização. Segundo os autores é necessário um período de adaptação e de formação de novas folhas na condição *ex vitro* para que esta variável apresente uma elevação no valor.

A fluorescência da clorofila a tem sido usada como um indicador da eficiência fotoquímica e foto inibição. A fluorescência emitida pela molécula de clorofila permite uma avaliação não destrutiva *in vivo*, fornecendo informações

sobre o rendimento fotoquímico e a capacidade fotossintética, por meio da quantificação da eficiência do fotossistema II (Carvalho et al., 2001).

Embora não tenham ocorrido diferenças estatísticas entre os tratamentos quanto ao índice fotossintético após a aclimatização (Figura 10 B), observa-se uma redução nos seus valores em comparação aos obtidos com as plantas *in vitro* (Figura 7).



Legenda: T1 – sais minerais PA + sacarose PA; T2 - sais minerais PA + açúcar cristal; T3 – sais minerais comerciais + sacarose PA; T4 – sais minerais comerciais + açúcar cristal.

Figura 10. Médias e erro padrão da Relação F_v/F_m (A), do Índice Fotossintético (PI) (B) e da Intensidade de Verde (SPAD) (C) em mudas de bananeira 'Williams após 45 dias de aclimatização.

De acordo com Strauss et al. (2006), o índice PI é uma expressão multivariada do fotossistema II, que combina absorção de energia luminosa, excitação de energia e conversão de energia de excitação para transporte de elétrons. O PI é eficiente na avaliação da eficiência fotoquímica de plantas que estão em condições de estresse.

Esta variável é usada para identificar alterações precoces no aparato fotossintético das plantas (Ripley et al., 2004). Neste caso, visualizando-se a Figura 10 (B), pode-se sugerir que houve uma redução na eficiência fotoquímica das mudas ao final da aclimatização.

Segundo Zhang et al. (2009), as mudas obtidas por cultura de tecidos são sensíveis e tenras, com folhas delgadas e fotossinteticamente inativas e com estômatos pouco funcionais, o que torna indispensável uma fase de adaptação após a retirada do ambiente *in vitro*. Desta forma, é comum observar algum nível de dano fotoquímico nas plantas no período de aclimatização, gerado pela mudança brusca de ambiente, como pôde ser verificado neste experimento.

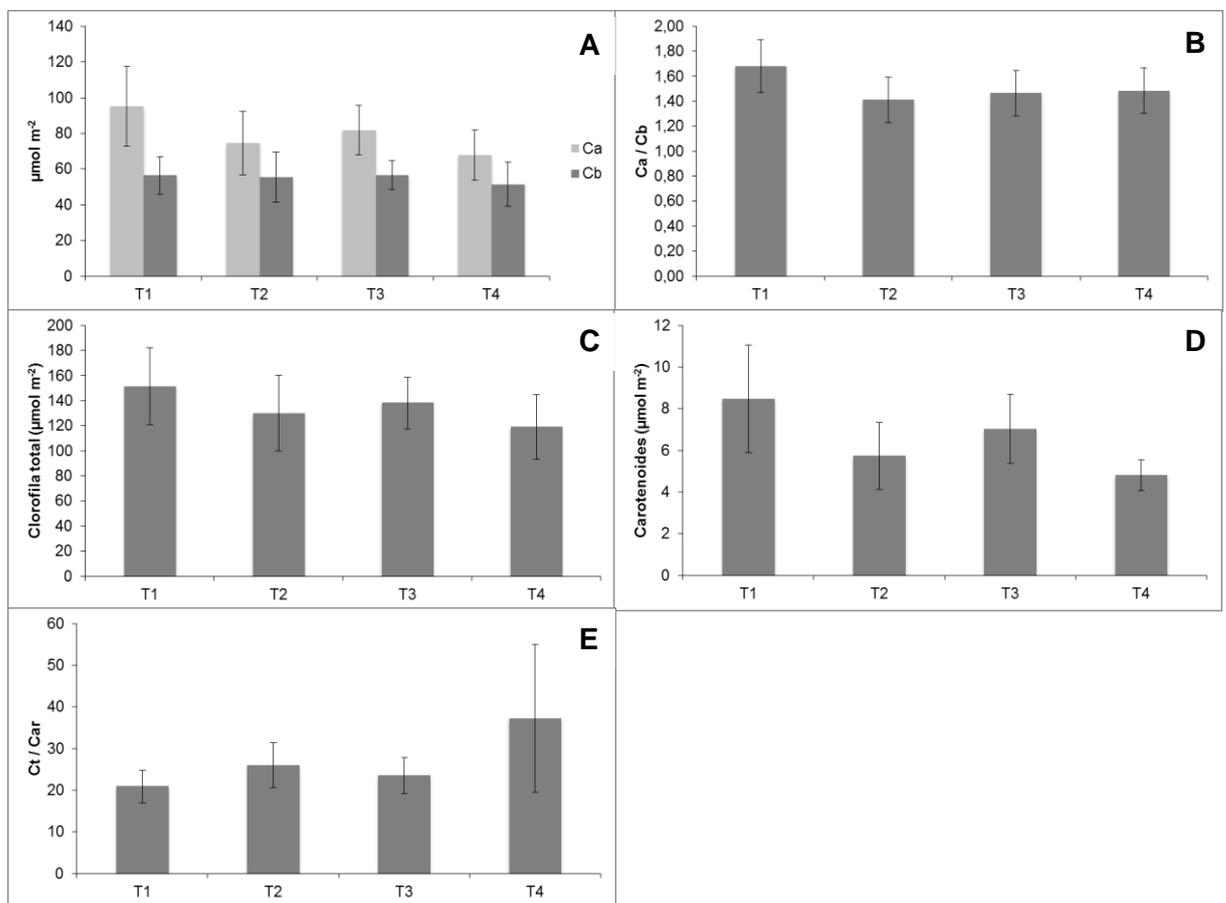
Na Figura 10 (C) encontram-se as médias de intensidade de cor verde nas folhas das plantas ao final da fase de aclimatização. É possível constatar que, mesmo não havendo diferenças significativas entre os tratamentos, houve uma redução nos valores de SPAD em comparação aos medidos nas plantas logo após a etapa *in vitro* (Figura 7). Este resultado sugere que estas plantas, ao saírem das condições *in vitro* e serem transferidas para a casa de vegetação, tenham sofrido algum tipo de estresse luminoso e/ou hídrico, ou ainda podem ter sofrido um efeito de diluição, uma vez que estavam maiores do que as recém-saídas do cultivo *in vitro*. Couto (2012) e Toyoda et al. (2010) também observaram esta redução nos valores de SPAD em mudas de abacaxizeiro cultivadas *in vitro* e posteriormente transferidas para casa de vegetação.

A redução do índice SPAD nas mudas provenientes do meio de cultivo utilizando sais minerais comerciais e sacarose PA (T3) justifica-se pela redução dos valores de clorofila total nas plantas após a aclimatização, como pode ser visto na Figura 11. Isso corrobora a eficiência do medidor SPAD como indicador dos teores de clorofila em plantas descrita por Torres Netto et al. (2005) e Torres Netto et al. (2002).

Segundo Hendry e Price, (1993), as clorofilas tendem a ser foto-oxidadas quando submetidas à alta irradiação e, devido aos carotenoides poderem prevenir

este dano oxidativo das clorofilas, a relação entre estes dois pigmentos pode ser usada como um indicador de perdas foto-oxidativas causadas por fortes irradiações. Neste sentido, a relação Ct/Car pode ser considerada uma forma de avaliação das condições fotossintéticas da planta (Hendry et al., 1987).

Contudo, embora as mudas possivelmente tenham sido submetidas a um estresse moderado, visto a redução dos valores de intensidade de verde, esta redução dos teores de pigmentos fotossintéticos não foi suficiente para ocasionar danos na eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (Figura 10).



Legenda: T1 – sais minerais PA + sacarose PA; T2 - sais minerais PA + açúcar cristal; T3 – sais minerais comerciais + sacarose PA; T4 – sais minerais comerciais + açúcar cristal.

Figura 11. Médias e erro padrão das Clorofilas *a* e *b* (A); relação Clorofila *a*/Clorofila *b* (B); Clorofila total (C), Carotenoides (D) e relação Clorofila total/Carotenoides (E) em folhas de bananeira 'Williams após 45 dias de aclimatização.

Os resultados apresentados neste trabalho mostram que, para a maioria dos parâmetros avaliados, não há interferência negativa dos produtos comerciais usados no meio de cultivo no crescimento e desenvolvimento das mudas, podendo-se afirmar que é possível substituir satisfatoriamente os sais minerais PA por adubos comerciais e a sacarose PA por açúcar cristal na propagação *in vitro* da bananeira 'Williams'.

De acordo com levantamento realizado (p. 85 – Anexo), constatou-se que a redução gerada por esta substituição é de aproximadamente 90%, o que causaria enorme impacto nas biofábricas produtoras de mudas de bananeira.

A redução do custo da produção dos meios de cultivo pode significar proporcional diminuição no valor final das mudas, o que facilitaria o acesso dos produtores a esse tipo de material, uma vez que o elevado custo das mudas micropropagadas impossibilita sua adoção por grande parte dos produtores.

6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados encontrados neste trabalho, conclui-se que:

- A substituição dos sais minerais PA por adubos comerciais e da sacarose PA por açúcar cristal no preparo do meio de cultivo não influenciou na produção de mudas de bananeira 'Williams' para a maioria das variáveis avaliadas;

- Não houve diferença entre a taxa de multiplicação *in vitro* das plantas cultivadas nos meios com produtos comerciais em comparação às cultivadas nos meios convencionais;

- Não houve diferença entre a taxa de enraizamento *in vitro* das plantas cultivadas nos meios com produtos comerciais em comparação às cultivadas nos meios convencionais;

- Ao final da aclimatização, as mudas produzidas apresentaram mesma qualidade fisiológica e nutricional daquelas oriundas da micropropagação em meio de cultivo convencional.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, J.A.R. (2011) *Desidratação osmótica de banana (Musa spp.): cinética de desidratação e avaliação de compostos bioativos*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, 72 p.
- Alvarenga, R.M. (2011) *Avaliação de parâmetros da fermentação e da destilação para adequação dos teores de compostos secundários em aguardente de banana*. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Belo Horizonte – MG, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, 157 p.
- Alves, E.J., Lima, M.B., Santos-Serejo, J.A., Trindade, A.V. (2004) Propagação. In: Borges, A.L., Souza, L.S. (eds) *O cultivo da bananeira*. EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, 279 p.
- Andrade, R.A., Marques, T.F., Jasper, S.P., Junior, E.R.D., Fuzitani, E.J., Nomura, E.S. (2011) Micropropagação de bananeira em meio líquido. *Comunicata Scientiae*, 2 (3): 156-159.
- Baker, N.R., East, T.M., Long, S.P. (1983) Chilling Damage to Photosynthesis in Young *Zea mays* II. Photochemical function of thylakoids *in vivo*. *Journal Experimental Botany*. 34 (139): 189-197.

- Basso, L.H., Teixeira, A.H.C., Silva, J.A.M., Silva, E.E.G., Ramos, C.M.C., Targino, E.L., Maia, J.L.T., Ferreira, M.N.L. (2001) Consumo de água e coeficiente de cultura em bananeira irrigada por micro aspersão. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical: *Comunicado Técnico 108*, 4 p.
- Bernardi, W.F., Rodrigues, B.I., Neto, P.C., Ando, A., Neto, A.T., Ceravolo, L.C., Montes, S.M.N.M. (2004) Micropropagação de baixo custo em bananeira cv. Maçã em meios com diferentes fontes de carbono e avaliação da performance em campo das mudas produzidas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 26 (3): 503-506.
- Bidabadi, S.S., Mahmood, M., Baninasab, B., Ghodabi, C. (2012) Influence of salicylic acid on morphological and physiological responses of banana (*Musa acuminata* cv. Berangan, AAA) shoot tips to *in vitro* water stress induced by polyethylene glycol. *Plant Omics Journal*, 5 (1): 33-39.
- Bolhàr-Nordenkamp, H.R., Long, S.P., Baker, N.R., Öquist, G., Schreiber, U., Lechner, E.G. (1989) Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. *Functional Ecology*, 3: 497-514.
- Bolhàr-Nordenkamp, H.R., Öquist, G. (1993) Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: Hall, D.O., Scurlock, J.M.O., Bolhàr-Nordenkamp, H.R., Leegood, R.C., Long, S.P. (eds), *Photosynthesis and Production in a Changing Environment: a Field and Laboratory Manual*, Chapman & Hall, London. p.193-206.
- Borges, A.L. (2004) Calagem e Adubação. In: Borges, A.L., Souza, L.S. (eds) *O cultivo da bananeira*. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, 279 p.
- Borges, A.L., Oliveira, A.M.G. (2000) Nutrição, Calagem e Adubação. In: Cordeiro, Z.J.M. (org.). *Banana Produção: Aspectos Técnicos*. Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, p. 47-59.

- Borges, A.L., Oliveira, A.M.G. (2006) Avaliação do estado nutricional da bananeira – diagnose visual. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical: *Comunicado Técnico Nº 117*, 7 p.
- Borges, A.L., Silva, A.L., Batista, D.C., Moreira, F.R.B., Flori, J.E., Oliveira, J.E.M., Araújo, J.L.P., Pinto, J.M., Castro, J.M.C., Moura, M.S.B., Azoubel, P.M., Cunha, T.J.F., Silva, S.O., Cordeiro, Z.J.M. (2009) Sistema de Produção da Bananeira Irrigada, Sistemas de Produção – Embrapa. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananeiraIrr/Banane/plantio.htm>. Acessado em 31/12/2013.
- Borges, A.L., Souza, L.S. (2004) Exigências edafoclimáticas. In: Borges, A.L., Souza, L.S. (eds) *O cultivo da bananeira*. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, 279 p.
- Braga, M.F., Sá, M.E.L., Mustafá, P.C. (2001) Avaliação de um protocolo para multiplicação *in vitro* da bananeira (*Musa sp.*) cv. Caipira (AAA). *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 23 (2): 215-219.
- Camolesi, M.R., Kaihara, E.S., Saconi, C.G., Faria, R.T., Neves, C.S.V.J. (2007) Redução da oxidação na propagação *in vitro* da bananeira ‘Maçã’. *Ciência & Agrotecnologia*, 31 (4): 1237-1241.
- Carvalho, A.C.P.P., Rodrigues, A.A.J., Santos, E.O. (2012) Produção de Mudanças Micropropagadas de Bananeira. *Circular Técnica Nº 37*, 14 p.
- Carvalho, A.C.P.P., Santos, E.O., Rodrigues, A.A.J. (2011) Panorama da produção de mudas micropropagadas no Brasil. In: Gerald, L.T.S. (org) *Biofábrica de Plantas: produção industrial de plantas in vitro*. 1 ed. Antiqua, 393 p.
- Carvalho, L.C., Osório, M.L., Chaves, M.M.; Amâncio, S. (2001) Chlorophyll fluorescence as an indicator of photosynthetic functioning of *in vitro* grapevine

and chestnut plantlets under *ex vitro* acclimatization. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 67: 271-280.

Cereja, B.S. (2005) *Caracterização agrônômica, qualidade físico-química e composição mineral de genótipos de bananeira no Norte Fluminense*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, 110 p.

Coelho, E.P., Ledo, C.A.S., Silva, S.O. (2008) Produtividade de bananeira ‘Prata-Anã’ e ‘Grande Naine’ no terceiro ciclo sob irrigação por micro aspersão em tabuleiros costeiros da Bahia. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 28 (3): 435-438.

Cordeiro Z.J.M. (2003) Cultivo da Banana para o Estado de Rondônia. Embrapa Mandioca e Fruticultura - Sistema de Produção. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananaRondonia/sementes.htm>>. Acessado em 31/12/2013.

Cordeiro Z.J.M., Fancelli, M., Almeida, C.O., Medina, V.M., Silva, S.O., Ritzinger, C.H.S.P., Borges, A.L., Souza, L.S., Lima, M.B., Coelho, E.F., Carvalho, J.E.B., Folegatti, M.I.S., Souza, A.S., Trindade, A.V., Matos, A.P.M., Filho, P.E.M., Barbosa, N.M.L., Lins, V.B.A. (2003) Cultivo da banana para o Projeto Formoso. Embrapa Mandioca e Fruticultura - Sistema de Produção. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananaFormoso/autores.htm>. Acessado em 18/09/2013.

Cordeiro, Z.J.M., Mesquita, A.L.M. (2000) Manejo integrado das pragas, doenças e plantas daninhas. In: Cordeiro, Z.J.M (org.) *Banana: Fitossanidade*. Brasília: Embrapa, p. 15-20.

Correia, D. (2006) *Macronutrientes, aspectos nutricionais e bioquímicos no crescimento de brotações de Eucalyptus grandis in vitro*. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) – Piracicaba – SP, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – EASLQ, 176 p.

- Couto, T.R. (2012) Avaliação de genótipos de abacaxizeiro cultivados *in vitro* e *ex vitro*: eficiência fotossintética, crescimento e relações hídricas. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 132 p.
- Crisostomo, L.A., Montenegro, A.A.T., Neto, J.S., Lima, R.N. (2008) Influência da adubação NPK sobre a produção e qualidade dos frutos de bananeira cv. Pacovan. *Revista Ciência Agronômica*, 39 (1): 45-52.
- Dantas, L.L., Shepherd, K., Silva, S.O., Filho, W.S.S. (1999) Classificação botânica, origem, evolução e distribuição geográfica. In: Alves, E.J. (org.) *A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais*. 2. ed. Brasília: Embrapa Cruz das Almas, 587 p.
- Debiasi, C., Zaffari, G.R., Guerra, M.P. (2002) Efeito da radiação fotossintética ativa no desenvolvimento inicial de bananeira *in vitro*. *Revista Brasileira de Agrociência*, 9 (2): 175-176.
- Desamero, N.V., Adelberg, J.W., Hale, A., Ypung, R.E., Rhodes, B.B. (1993) Nutrient utilization in liquid/membrane system for watermelon micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 33: 265-271.
- Diniz, J.D.N., Gonçalves, N.A., Hernandez, F.F.F., Torres, A.C. (1999) Absorção de macronutrientes por explantes de bananeira *in vitro*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34 (7): 1201-1209.
- EMBRAPA (2009) *Dia de Campo aborda a cultura da Banana*. Embrapa: Banana Pós Colheita. Informações Tecnológicas Brasília. Disponível em: <http://www.embrapa.br/embrapa/imprensa/noticias/2009/abril/4-semana/dia-de-campo-aborda-a-cultura-da-banana>. Acessado em 31/12/2013.
- Erig, A.C., Schuch, M.W. (2005) Micropropagação fotoautotrófica e uso da luz natural. *Revista Ciência Rural*, 35 (4): 961-965.

- Erig, A.C., Schuch, M.W., Silva, L.C. (2004) Multiplicação *in vitro* de macieira (*Malus domestica* Borkh) cv. Galaxy: meio de cultura e agentes solidificantes alternativos. *Revista Brasileira de Agrociência*, 10 (3): 297-302.
- Evans, J.R. (1989) Photosynthesis and nitrogen relationship in leaves of C3 plants. *Oecologia*, 78: 9-19.
- Fancelli, M. (2003) Cultivo da Banana para o Estado do Amazonas. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Sistema de Produção. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananaAmazonas/sementes.htm>. Acessado em 31/03/2013.
- FAO. FAOSTAT (2013) Agricultural statistics database. Disponível em: <http://apps.fao.org>. Acessado em 05/01/2014.
- Fáril, M., Melo, N.F. (1996) Automação e racionalização na micropropagação industrial. *Boletim Informativo da Associação Brasileira de Cultura de Tecidos de Plantas*, 26, p. 2-6.
- Ferri, V.C. Centellas, A.Q. Helbig, V.E., Fortes, G.R.L. (1998) Uso do ágar, amido e ácido indolbutírico no enraizamento *in vitro* do porta enxerto de macieira MM111. *Revista Ciência Rural*, 28 (4): 561-565.
- Fioravanço, J.C. (2003) Mercado mundial de banana: produção, comércio e participação brasileira. *Informações Econômicas*, 33 (10): 15-27.
- Flori, J.E., Resende, G.M., Paiva, L.E. (2004) Produção de bananeira 'Grande Naine' superadensada e irrigada no Vale do São Francisco. *Ciência & Agrotecnologia*, 28 (5): 1060-1065.
- Gasparotto, L., Pereira, J.C.R., Hanada, R.E., Montarroyos, V.V. (2006) *Sigatoka-negra*. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 177 p.

- Godoy, R.C.B. (2010) *Estudo das variáveis de processo em doce de banana de corte elaborado com variedade resistente à Sigatoka-negra*. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Curitiba – PR, Universidade Federal do Paraná – UFP, 259 p.
- Grattapaglia, D., Machado, M.A. (1998) Micropropagação. In: Torres, A.C., Caldas, L.S., Buso, J.A. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa/SPI, p. 183-260.
- Haridasan, P., Caldas, L.S. (1989) Micropropagação de bananeira ‘Prata’ através de cultivo *in vitro* de ápices vegetativos. *Acta Botanica Brasilica*, 3 (1): 121-130.
- Hendry, G.A.F., Houghton, J.D., Brown, S.B. (1987) The degradation of chlorophyll – a biological enigma. *New Phytologist*, 107: 255-302.
- Hendry, G.A.F., Price, A.H. (1993) Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: Hendry, G.A.F., Grime J.P. (eds.) *Methods in Comparative Plant Ecology*, p.148-152.
- IBGE (2012) Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acessado em 05/01/2014.
- Jesus, S.C., Folegatti, M.I.S., Matsura, F.C.A., Cardoso, R.L. (2004) Caracterização física e química de frutos diferentes genótipos de banana. *Bragantia*, 63 (3): 315-323.
- Kaçar, Y.A., Biçen, B., Varol, I., Mendi, Y.Y., Serçe, S., Çetiner, S. (2010) Gelling agents and culture vessels affect *in vitro* multiplication of banana plantlets. *Genetics and Molecular Research*, 9 (1): 416-424.
- Kodym, A., Zapata-Arias, F.J. (2001) Low-cost alternatives for the micropropagation of banana. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 66: 67-71.

- Kogler, E.V. (2006) Recomendação técnica para implantação da cultura da banana em Bom Jesus da Lapa – BA. *Boletim Técnico*, Planaltina – DF: Faculdades Integradas – UPIS, 48 p.
- Kozai, T., Kubota, C., Jeong, B.R. (1997) Environmental control for the large scale production of plants through *in vitro* techniques. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 51: 49-56.
- Leifert, C., Murphy, K.P., Lumsden, P.J. (1995) Mineral and carbohydrate nutrition of plant cell and tissue culture. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 14 (2): 83-109.
- Lemos, E.E.P., Ferreira, M.S., Alencar. L.M.C., Neto, C.E.R., Albuquerque, M.M. (2002) Conservação *in vitro* de germoplasma de cana-de-açúcar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37 (10): 1359-1364.
- Lemos, E.E.P., Ferreira, M.S., Alencar. L.M.C., Oliveira, J.G.L., Magalhães, V.S. (2001) Micropropagação de clones de banana cv. Terra em Biorreator de Imersão Temporária. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23 (3): 482-487.
- LI-COR. LI-3100 (1996) *Area meter instruction manual*. Lincoln, 34 p.
- Lima, J.D., Silva, S.H.M.G., Santos, E.M.H., Lima, A.P.S., Hirata, D.M., Santos, F. (2009) Crescimento e nutrição de mudas de bananeira em substrato contendo resíduos da agroindústria de chá preto durante a aclimatização. *Scientia Agraria*, 10 (1): 37-42.
- Ling, Q., Huang. W., Jarvis, P. (2011) Use of a SPAD-502 meter to measure leaf chlorophyll concentration in *Arabidopsis thaliana*. *Photosynthesis Research*, 107: 209-214.
- Mahadev, S.R., Kathithachalam, A., Marimuthu, M. (2011) An efficient protocol for large-scale plantlet production from male floral meristems of *Musa spp.*

- Cultivars Virupakshi and Sirumalai. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, (47): 611-617.
- Maia, V.M., Chamhum, L.C., Cantarutti, R.B., Venegas, H.A., Couto, F.A.A. (2003) Efeitos de doses de nitrogênio, fósforo e potássio sobre os componentes da produção e a qualidade de bananas ‘Prata Anã’ no distrito agroindustrial de Jaíba. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25 (2): 319-322.
- Malavolta, E. (2006) *Manual de nutrição mineral de plantas*. Piracicaba: Editora Ceres, 631 p.
- Malavolta, E., Vitti, G.C., Oliveira, S.A. (1997) *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. Piracicaba: POTAFOS, 319 p.
- Manica, I. (1997) *Fruticultura tropical 4: Banana*. Porto Alegre: Cinco Continentes, 485 p.
- Marschner, H. (1995) *Mineral nutrition of higher plants*. 2^o ed. Academic Press, 889 p.
- Martins, A.N., Poz, L.D., Suguino, E., Dias, N.M.S., Perdoná, M.J. (2011) Aclimatização de mudas micropropagadas de bananeira ‘Nanicão Williams’ em diferentes substratos e fontes de nutrientes. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 6 (1): 65-72.
- Mendes, B.M. J., Mendes, F.J., Neto, A.T. (1996) Efficacy of banana plantlet production by micropropagation. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 31 (12): 863-867.
- Mendonça, V., Gontijo, T.C.A., Abreu, N.A.A., Dantas, D.J., Martins, P.C.C. (2003) Propagação da Bananeira e Cuidados na Instalação do Pomar. *Revista Científica Eletrônica de Agronomia*, (3): 1-11.
- Moraes, C.R.O. (2012) *Micropropagação da bananeira ‘Tropical’ grupo Maça em biorreator de imersão temporária sob enriquecimento de CO₂*. Monografia

(Graduação em Agronomia) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 49 p.

Moreira, A., Castro, C., Fageria, N.K. (2010) Efficiency of boron application in Oxisol cultivated with banana in the Central Amazon. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 82: 1137-1145.

Moreira, R.S. (1999) *Banana: teoria e prática de cultivo*. 2 ed. Campinas: Fundação Cargill, 335 p.

Murashige, T., Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum*, 15: 473-497.

Nakayama, L.H.I. (2012) Alternativas para propagação das mudas sadias de bananeiras (*Musa spp.*). *Folha Técnica Nº 6*, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Belém – PA, 2 p.

Neto, S.P.S, Guimarães, T.G. (2011) Evolução da cultura da banana no Brasil e no mundo. Planaltina: Embrapa Cerrados. Disponível em: <http://www.cpac.embrapa.br/noticias/artigosmidia/publicados/287/>. Acessado em 22/10/2013.

Nicoloso, F.T., Erig, A.C., Russowski, D., Martins, C.F. (2003) Efeito de doses e fontes de carboidratos no crescimento de plantas de ginseng brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen] cultivadas *in vitro*. *Revista Ciência e Agrotecnologia*, 27 (1): 84-90.

Nomura, E.S., Teixeira, L.A.J., Boaretto, R.M., Garcia, V.A., Fuzitani, E.J., Junior, E.R.D., Saes, L.A., Junior, D.M. (2011) Aplicação de boro em bananeira. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33 (2): 608-617.

Ögren, E., Öquist, G. (1985) Effects of drought on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and photoinhibiti on susceptibility in intact willow leaves. *Planta*, 166 (3): 380-388.

- Oliveira, D.T., Esquiaveto, M.M.M., Júnior, J.F.S. (2007) Impacto dos itens da especificação do açúcar na indústria alimentícia. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27: 99-102.
- Oliveira, H.S., Lemos, O.F., Miranda, V.S., Moura, H.C.P., Campelo, M.F., Santos, L.R.R. (2011) Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de brotos no processo de micropropagação de cultivares de bananeira (*Musa spp.*). *Acta Amazônica*, 41 (3): 369-376.
- Oliveira, J.P., Pereira, J.E.S. (2011) Influência genotípica e clonal de genótipos de bananeiras micropropagados a partir de gemas florais masculinas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Volume especial, 558- 563.
- Oliveira, R.S. (2012) *Comparação do desenvolvimento de mudas de abacaxizeiros 'Vitória' e 'Gold' em meios de cultivo econômicos*. Monografia (Graduação em Agronomia) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, 68 p.
- Pereira, F.A., Carneiro, M.R., Andrade, L.M. (2006) *Banana*. 3 ed. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica (Coleção Plantar, 56), 110 p.
- Pereira, G.A. (2012) *Protocolo para Micropropagação de Bananeira 'Thap Maeo'*. Tese (Doutorado em Agronomia) – Ilha Solteira – SP, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, 121 p.
- Pereira, G.A., Correa, L.S., Boliani, A.C. (2011) Desinfestação e estabelecimento *in vitro* de explantes de bananeira 'Grande Naine' em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Volume especial, 222-226.
- Pereira, G.A., Ribeiro, B.V., Marcílio, H.C., Santaella, M.B. (2009) Desinfestação e estabelecimento *in vitro* de explantes de bananeira 'IAC 2001' em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*, 3 (2): 43-46.

- Pereira, M.R. (2011) *Simplificação de meios de cultivo para propagação vegetativa in vitro do abacaxizeiro 'Vitória'*. Monografia (Graduação em Agronomia) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, 41 p.
- Perin, A. Guerra, J.G.M., Epindola, J.A.A., Teixeira, M.G., Busquet, R.N.B. (2009) Desempenho de bananeiras consorciadas com leguminosas herbáceas perenes. *Ciência & Agrotecnologia*, 33 (6): 1511-1517.
- Peters, J.B. (2005) Wisconsin Procedures for Soil Testing, Plant Analysis and Feed & Forage Analysis: Plant Analysis. Department of Soil Science, College of Agriculture and Life Sciences, University of Wisconsin-Extension, Madison,WI. Disponível em: http://uwlab.soils.wisc.edu/files/procedures/plant_icp.pdf. Acessado em 10 de março de 2013.
- Prakash, S., Hoque, M.I., Brinks, T. (2004) Culture media and containers. In: *Technical meeting of low costs options for tissue culture technology in developing countries*. Proceedings, IAEA: FAO, p. 29-40.
- Ramos, R.S., Motoike, S.Y., Moura, E.F., Gomes, S.B.S., Rodrigues, V.F., Oliveira, M.A.R. (2009) Efeito da ureia no alongamento e enraizamento de microplantas de bananeira *in vitro*. *Ciência & Agrotecnologia*, 33, Edição Especial: 1842 -1846.
- Ribeiro, J. M., Melo, N.F., Coelho, A.K.N.S., Pinto, M.S.T. (2012) Efeito do melado de cana-de-açúcar no desenvolvimento *in vitro* de bananeira (*Musa spp.*) cv. Maçã. *Revista Ceres*, 59 (3): 293-298.
- Ribeiro, J. M., Teixeira, S.L. (2007) Multiplicação de *Sequoia sempervirens* em meio de cultura esterilizado com hipoclorito de sódio. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, 13: 356.

- Rios, S.A., Nietscher, S., Pereira, M.C.T., Xavier, A.A., Fernandes, T.P., Dias, M.M., Lima, C., Santos, T.M. (2008) Protocolos de assepsia e comprimento de explantes de bananeira 'Prata Anã' sobre a produção de mudas por micropropagação. *Unimontes Científica*, 10 (1/2): 46-52.
- Ripley B.S., Redfern, S.P., Dames, J. (2004) Quantification of the photosynthetic performance of phosphorus-deficient Sorghum by means of chlorophyll-a fluorescence kinetics. *South African Journal of Science*, 100: 615-618.
- Rodrigues, M.G.V. (2006) *Resposta da bananeira 'Prata-Anã' à aplicação de zinco e boro no rizoma*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Jaboticabal – SP, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, 97 p.
- Sá, M.E.L., Braga, M.F. (2002) Avaliação de protocolo para obtenção de mudas micropropagadas de bananeira cv. Prata-Anã (subgrupo AAB). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24 (1): 236-239.
- SAEG. Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1 (2007) Fundação Arthur Bernardes – Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa – MG.
- Santana, A., Okamoto, P.T., Barboza, L.C., Santos, C.A., Figueiredo, L.C.P., Gracioso, F., Rossister, R., Paula, J., Mayana P., Gallucci, L., Queiroga, D.C., Umeda, G. (2008) *Banana: estudos de mercado*, SEBRAE/ESPM, 38 p.
- Santos, C.C., Rodrigues, P.H.V. (2004) Variação somaclonal em mudas micropropagadas de bananeira Cultivar Pacovan. *Bragantia*, 63 (2): 201-205.
- Santos, F., Silva, F.S., Porto, A.G., Silva, F.T.C.S., Furtado, G.F. (2010) Influência de pré-tratamentos na cinética de secagem em diferentes temperaturas de banana da variedade Terra (*Musa Sapientum*, Linneo). *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, 4 (2): 218-234.
- Santos, J.A., Silva, C.R.R., Carvalho, J.G., Nascimento, T.B. (2004) Calcário dolomítico e nitrato de potássio no desenvolvimento inicial de mudas da

- bananeira 'Prata-Anã' (AAB), provenientes de cultura *in vitro*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 26 (1): 150-154.
- Santos-Serejo, J.A., Souza, A.S., Souza, F.V.D., Junghans, T.G., Lino, L.S.M., Soares, T.L., Souza, E.H. (2009) Micropropagação da Bananeira. In: Jungans, T.G., Souza, A.S. (eds) *Aspectos práticos da micropropagação de plantas*. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, p. 237-255.
- Schmidt, E.R., Amaral, J.A.T., Schmidt, O. (2007) Sacarose na fase de enraizamento *in vitro* de mamoeiro 'Tainung 01'. *Scientia Agraria*, 8 (1): 25-31.
- Silva, E.A., Boliani, A.C., Corrêa, L.S. (2006) Avaliação de cultivares de bananeira (*Musa* sp.) na região de Selvíria-MS. *Revista Brasileira Fruticultura*, 28 (1): 101-103.
- Silva, I.P. (2010) *Adubação com magnésio e potássio em bananeira "Prata anã" cultivada em área irrigada com água calcária no Norte de Minas*. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Lavras, MG, Universidade Federal de Lavras, Lavras – UFL, 59 p.
- Silva, J.T.A., Borges, A.L., Malburg, J.L. (1999) Solos, adubação e nutrição da bananeira. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, 20 (196): 21-36.
- Silva, J.T.A., Pereira, R.D., Rodrigues, M.G.V. (2012) Adubação da bananeira 'Prata-Anã' com diferentes doses e fontes de nitrogênio. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 16 (12): 1314-1320.
- Silva, J.T.A., Silva, I.P., Neto, A.M., Costa, E.L. (2008) Aplicação de potássio, magnésio e calcário em mudas de bananeira 'Prata-Anã' (AAB). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30 (3): 782-786.
- Silva, S. O. (2013) Banana: Produção, 1, Frutas do Brasil. Disponível em: http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_2899.pdf. Acessado em 22/04/2013.

- Silva, S.O., Alves, E.J., Shepherd, K., Dantas, J.L.L. (1997) Cultivares. In: Alves, E.J. (org). *A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais*. Brasília: Embrapa Cruz das Almas, 585 p.
- Silva, S.O., Santos-Serejo, J.A., Cordeiro, Z.J.M. (2004) Variedades. In: Borges, A.L., Souza, L.S. (eds) *O cultivo da bananeira*. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, 279 p.
- Simmonds, N.W. (1973) *Los platanos*. Barcelona: Blume, 539 p.
- Simmonds, N.W., Shepherd, K. (1954) The taxonomy and origins of the cultivated banana. *The journal of the Linnean Society of London*, 55 (359): 302-312.
- Skrebsky, E.C., Maldaner, F.T.N., Maldaner, J. (2006) Substratos na aclimatização de *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen produzida *in vitro* sob diferentes doses de sacarose. *Revista Ciência Rural*, 36 (5): 1416-1423.
- Soares, F.A.L., Gheyi, H.R., Oliveira, F.H.T., Fernandes, P.D., Alves, A.N., Silva, F.V. (2008) Acúmulo, exportação e restituição de nutrientes pelas bananeiras “Prata Anã” e “Grand Naine”. *Revista Ciência Rural*, 38 (7): 2054-2058.
- Soluri, J. (2008) Consumo de massas, biodiversidade e fitomelhoramento da banana de exportação 1920-1980. *Varia Historia*, 24 (39): 47-70.
- Someya, S., Yoshiki, Y., Okubo, K. (2002) Antioxidant compounds from bananas (Musa Cavendish). *Food Chemistry*, 79: 351-354.
- Souza, A.S., Cordeiro, Z.J.M., Trindade, A.V. (2000) Produção de mudas. In: Cordeiro, Z.J.M. (org.) *Banana Produção: aspectos técnicos*. Brasília: Embrapa, p. 39-46.
- Souza, A.S., Costa, M.A.P.C., Santos-Serejo, J.A., Junghans, T.G., Souza, F.V.D. (2006) Introdução à Cultura de Tecidos de Plantas. In: Souza, A.S., Junghans, T.G. (eds) *Introdução à Micropropagação de Plantas*, EMBRAPA, p. 11-37.

- Souza, A.S., Junghans, T.G. (2006) *Introdução à Micropropagação de Plantas*. 1 ed. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 152 p.
- Souza, H.U., Silva, C.R.R., Carvalho, J.G., Menegucci, J.L.P. (2000) Nutrição de mudas de bananeira em função de substratos e doses de superfosfato simples. *Ciência Agrotécnica*, 24 (Edição especial): 64-73.
- Souza, L.S., Neto, R.D.V. (2003) Cultivo da banana para o ecossistema dos tabuleiros costeiros. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananaTabCosteiros/adubacao.htm>. Acessado em 19/05/2013.
- Souza, P.H.M. (2002) *Desidratação osmótica de banana com e sem vácuo com complemento de secagem em estufa de circulação de ar*. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Fortaleza – CE, Universidade Federal do Ceará – UFC, 106 p.
- Strasser, R.J., Srivastava, A., Tsimilli-Michael, M. (2004) Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient. In: Papageorgiou, G., Govindjee (eds.). *Advances in Photosynthesis and Respiration Chlorophyll Fluorescence a Signature of Photosynthesis*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 19: 321-362.
- Strasser, R.J., Tsimilli-Michael, M., Srivastava, A. (2000) The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Yunus, M., Pather, U., Mohanly, P. (eds.). *Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation*. Taylor and Francis. p. 445-483.
- Strauss, A.J., Krüger, G.H.J., Strasser, R.J., Van Heerden, P.D.R. (2006) Rankin of dark chilling tolerance in soybean genotypes probed by the chlorophyll *a* fluorescence transient O-J-I-P. *Environmental and Experimental Botany*, 56: 147-157.
- Taiz L., Zeiger, E. (2013) *Fisiologia Vegetal*. Artmed, 5 ed. p. 164-197.

- Teixeira, S.L., Teixeira, M.T., Ribeiro, J.M. (2005) Chemical sterilization of culture medium. 2. Addition of sodium hypochlorite to the medium. *Horticultura Brasileira*, 23 (2): 591.
- Thorpe, T., Stasolla, C., Yeung, E.C., Klerk, G.J., Roberts, A., George, E.F. (2008) The components of plant tissue culture media II: Organic additions, osmotic and pH effects, and support systems. *In: Goerge, E.F., Hall, M.A., Klerk, G.J.. Plant Propagation by Tissue Culture*. 3rd Edition. Springer, v.1, p.1-23.
- Torres Netto, A., Campostrini, E., Oliveira, J.G., Bressan-Smith, R.E. (2005) Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll *a* fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. *Scientia Horticulturae*, 104: 199-209.
- Torres Netto, A., Campostrini, E., Oliveira, J.G., Yamanishi, O.K. (2002) Portable chlorophyll meter for the quantification of photosynthetic pigments, nitrogen and the possible use for assessment of the photochemical process in *Carica papaya* L.. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 14 (3): 203-210.
- Toyoda, P.R.M., Couto, T.R., Torres Netto, A., Silva, J.R., Athayde, M.O., Carvalho, V.S., Leal, N.R. (2010) Análise biométrica e ecofisiológica da aclimatização de mudas de abacaxizeiro cultivar 'Gold' oriundos de micropropagação. *Anais do XXI Congresso Brasileiro de Fruticultura – Natal, RN*.
- Vettorazzi, R. (2013) *Conservação in vitro de variedades de batata-doce (Ipomoea batatas L. Lam) do norte do estado do Rio de Janeiro*. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, 53 p.
- Vieira L. M. (2011) *Banana: produção e mercado mundial, nacional e catarinense*. Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina - 2010-2011, 7 p.

- Wellburn, A. (1994) The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*, 144: 307-313.
- Zaidan, H.A., Oliveira, E.T., Gallo, L.A., Crocomo, O.J. (1999) Comportamento fisiológico *in vitro* de bananeira (*Musa* sp. AAA e AAB) cvs. Nanica e Prata Anã: influência de diferentes níveis de potássio. *Scientia Agricola*, 56 (2): 397-406.
- Zhang, M., Zhao, D., Ma, Z., Li, X., Xiao, Y. (2009) Growth and photosynthetic capability of *Momordica grosvenori* plantlets grown photoautotrophically in response to light intensity. *HortScience*, 44: 757-763.
- Zivcák, M., Brestic, M., Olsovská, K., Slamka, P. (2008) Performance index as a sensitive indicator of water stress in *Triticum aestivum* L. *Plant, Soil and Environment*, 54 (4): 133-139.

APÉNDICE



Figura 1A. Mudas de bananeira 'Williams', antes do início do experimento.



Figura 2A: Visão geral do processo de subcultivo em câmara de fluxo laminar.



Figura 3A: Frasco com brotações intactas antes dos subcultivos e detalhe do conjunto de brotações.

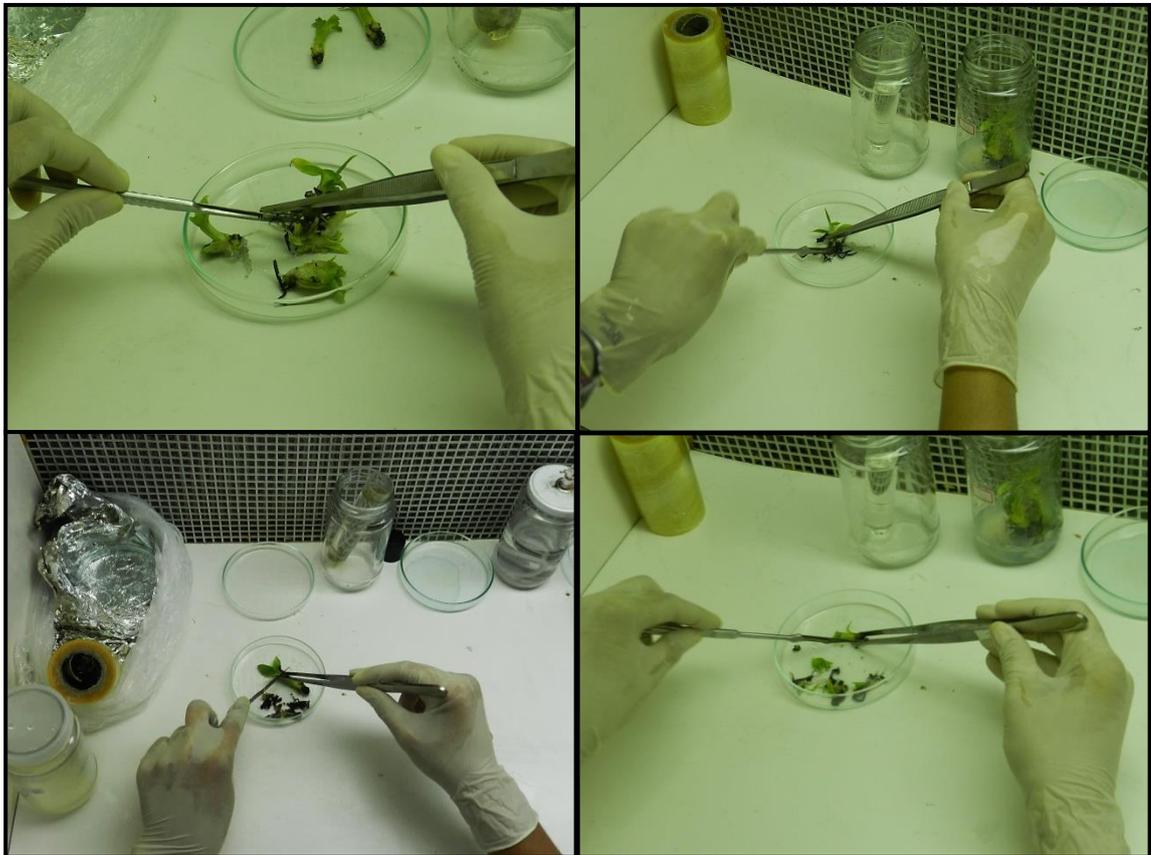


Figura 4A: Procedimento de subcultivo: individualização e limpeza das brotações.

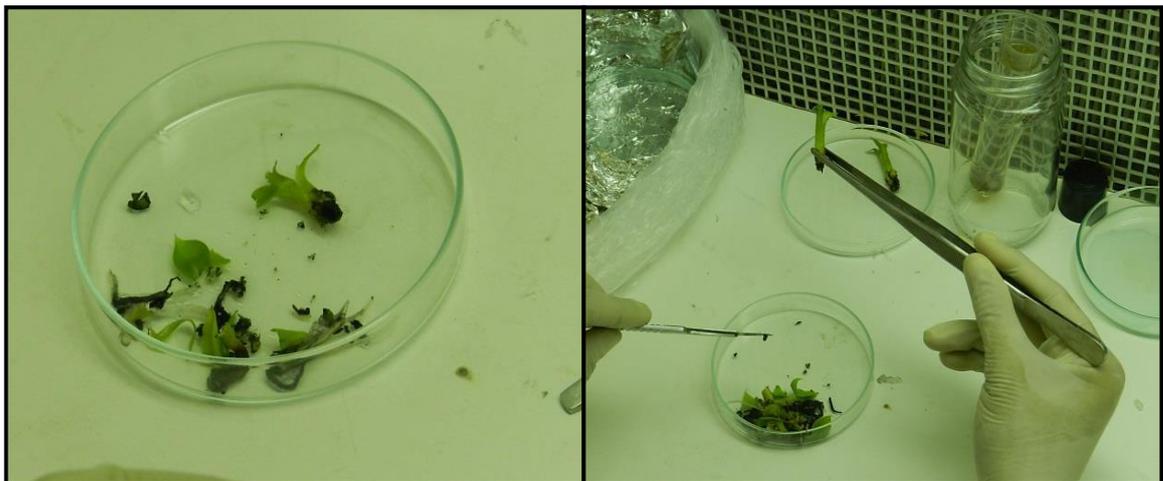


Figura 5A: Procedimento de subcultivo: brotações após limpeza.



Figura 6A: Procedimento de subcultivo: quebra da dominância apical com auxílio de bisturi e pesagem das brotações.

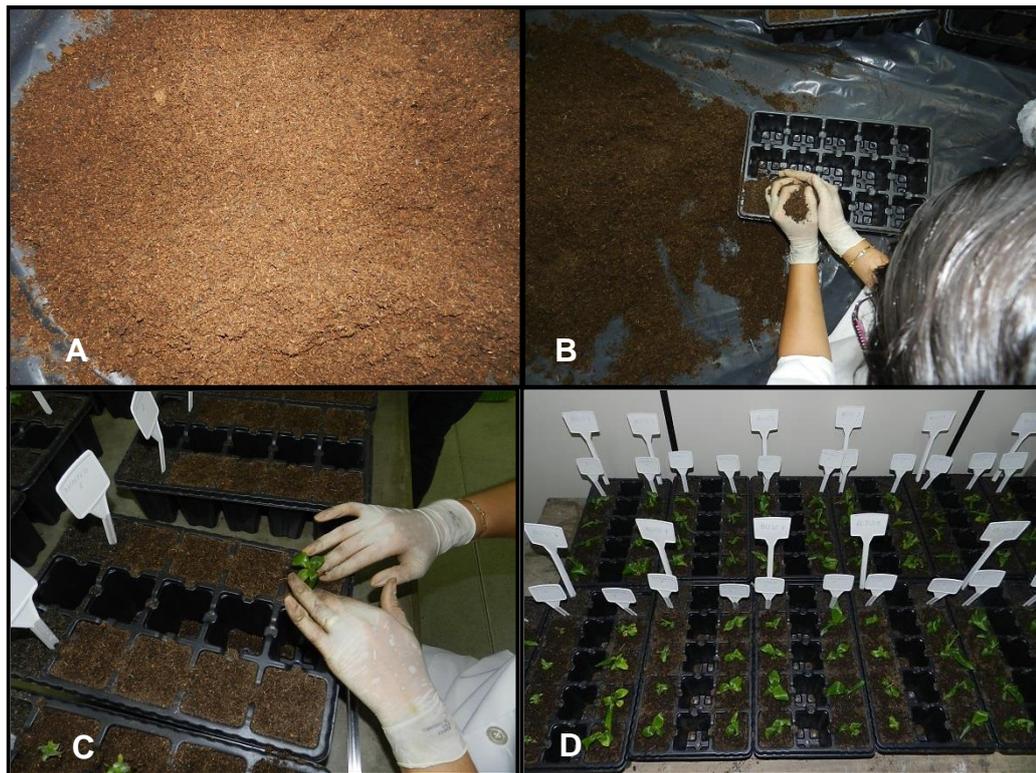


Figura 7A: Procedimento de subcultivo: brotações sendo colocadas no meio e frasco com quatro brotações ao final do procedimento.



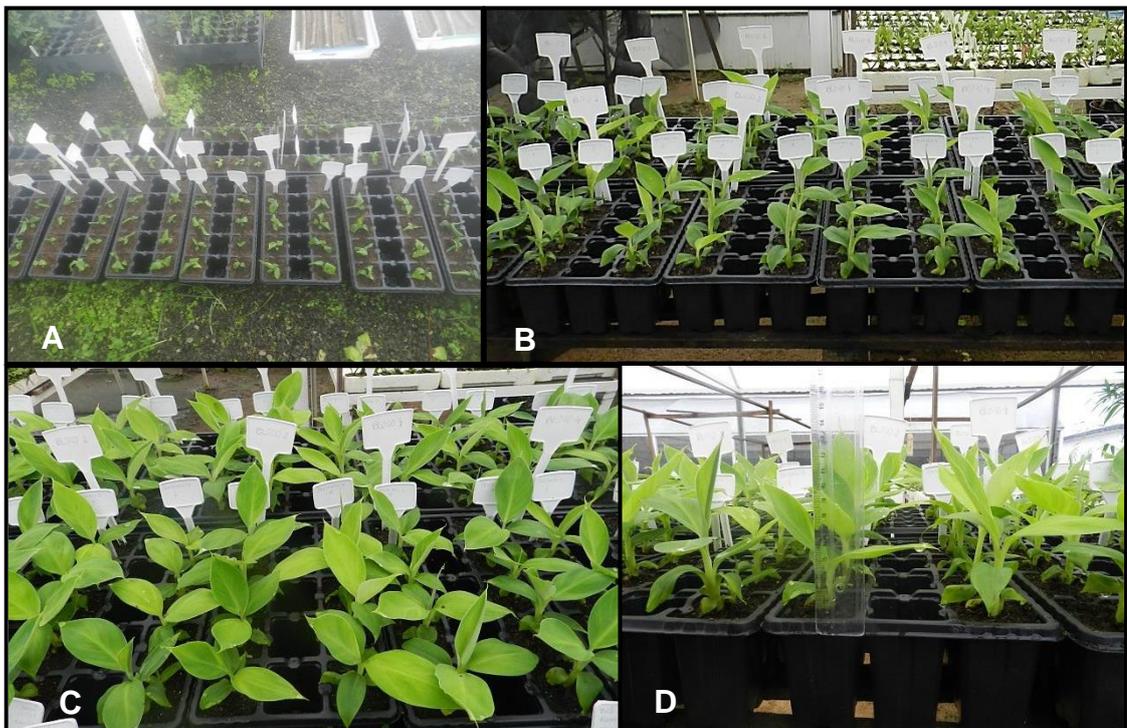
Legenda: T1 – sais minerais PA + sacarose PA; T2 – sais minerais PA + açúcar cristal; T3 – sais minerais comerciais + sacarose PA; T4 – sais minerais comerciais + açúcar cristal.

Figura 8A: Plantas de bananeira 'Williams após 120 dias de cultivo *in vitro*.



Legenda: A – mistura do substrato comercial Basaplant® com pó de fibra de coco;
 B – preenchimento das bandejas; C – plantio das mudas nas células da bandeja;
 D – visão geral das mudas após o plantio.

Figura 9A: Plantio das mudas de bananeira ‘Williams’.



Legenda: A – mudas em câmara de nebulização logo após o plantio; B – mudas 15 dias após o plantio; C – mudas 30 dias após o plantio; D – detalhe da altura das plantas aos 30 dias de plantio.

Figura 10A: Mudas de bananeira ‘Williams’ durante a aclimatização.



Figura 11A: Mudanças de bananeira 'Williams' aos 45 dias de aclimatização



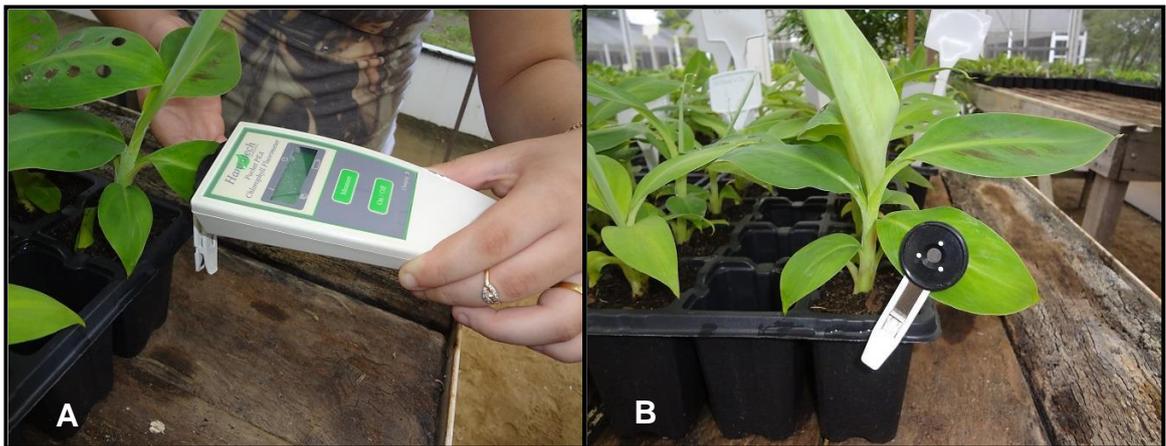
Figura 12A: Determinação do diâmetro do pseudocaule com auxílio de paquímetro digital.



Figura 13A: Determinação da altura da planta com auxílio de régua graduada.



Figura 14A: Coleta dos discos foliares para quantificação dos teores de pigmentos fotossintéticos.



Legenda: Pocket PEA Chlorophyll Fluorimeter; B – pinça utilizada para adaptação dos cloroplastos ao escuro.

Figura 15A: Análise da Fluorescência da Clorofila a e do Índice Fotossintético.



Figura 16A: Determinação da Intensidade de Verde com SPAD-502.

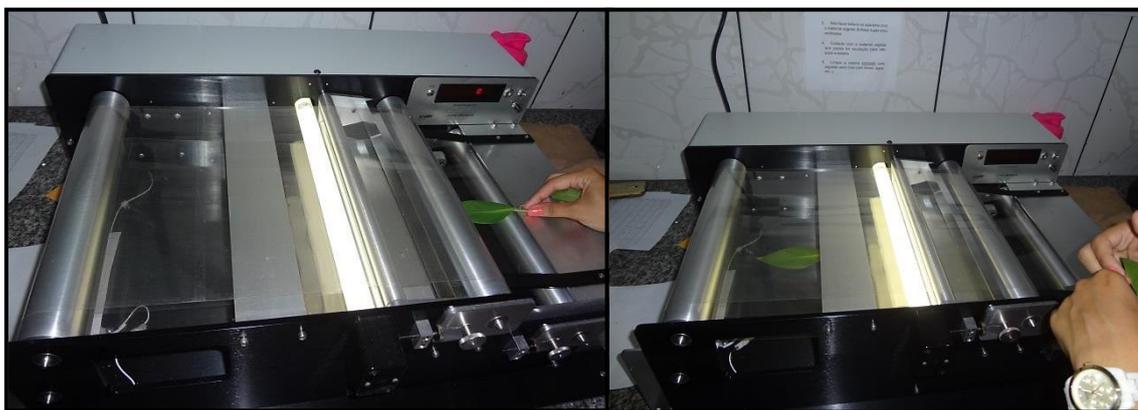


Figura 17A: Determinação da Área Foliar.

Tabela 1A. Estimativa de custo dos reagentes PA e dos equivalentes comerciais utilizados no preparo do meio de cultivo MS.

Fonte mineral	Valor aproximado (R\$) para preparar:	Fonte mineral	Valor aproximado (R\$) para preparar:
Sais PA	1000,0 L	Sais Comerciais	1000,0 L
KNO ₃ *	342,00	FertiNK**	7,33
NH ₄ NO ₃ *	115,00	Nitrato de Amônio**	0,99
MgSO ₄ .7H ₂ O*	9,62	Ferti MAGs**	0,47
KH ₂ PO ₄ *	13,60	FertiMAP**	0,59
CaCl ₂ .2H ₂ O*	11,44	Cloreto de Cálcio***	0,88
H ₃ BO ₃ *	0,19	FertiBORO**	0,02
Sacarose*	420,00	Açúcar cristal****	62,70
Subtotal	911,85	Subtotal	72,98
MnSO ₄ .4H ₂ O*	2,50	MnSO ₄ .4H ₂ O*	2,50
ZnSO ₄ .7H ₂ O*	0,55	ZnSO ₄ .7H ₂ O*	0,55
KI*	0,25	KI*	0,25
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O*	0,14	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O*	0,14
CoCl ₂ .6H ₂ O*	3,15	CoCl ₂ .6H ₂ O*	3,15
CuSO ₄ .5H ₂ O*	1,30x10 ⁻³	CuSO ₄ .5H ₂ O*	1,30x10 ⁻³
FeSO ₄ .7H ₂ O*	1,00	FeSO ₄ .7H ₂ O*	1,00
Na ₂ .EDTA*	8,56	Na ₂ .EDTA*	8,56
Subtotal	16,15	Subtotal	16,15
Total	928,00	Total	89,13

*Valores cotados em junho de 2013, referentes a reagentes da marca Vetec®

** Valores cotados em junho de 2013, referentes a produtos da marca Heringer®

*** Valor cotado em junho de 2013, referente ao cloreto de cálcio da marca Cálciosol®

****Valor cotado em janeiro de 2014, referente ao açúcar cristal da marca União®