

ESTUDO DA QUALIDADE DE LUZ, ANTIFÚNGICOS E ANTIOXIDANTES NA MICROPROPAGAÇÃO DE *MUSA* sp. CV PRATA ANÃ

Carlos Eduardo Alves da Silva¹; Érica Patrícia Felipe da Silva¹; Raniele Costa Oliveira¹; Ari Medeiros Braga Neto²; Marcelo Augusto Filardi³

1 Bolsistas (IFMG), Curso Ciências Biológicas, IFMG Campus São João Evangelista, São João Evangelista - MG

2 Técnico administrativo em Educação (IFMG), IFMG Campus São João Evangelista, São João Evangelista - MG

3 Pesquisador do IFMG, Campus São João Evangelista; marcelo.filardi@ifmg.edu.br

RESUMO

A banana (*Musa* spp. AAA; Musaceae) é uma das frutas mais consumidas no mundo. A propagação convencional é lenta e limitada quanto à disponibilização de novos cultivares resistentes às principais doenças. A micropropagação é uma alternativa para a produção de mudas de bananeiras com quantidade e qualidade fitossanitária e vegetativa, mas o custo, a contaminação por fungos e bactérias e a oxidação dos explantes são fatores que podem comprometer esta técnica microbiotecnológica. Porém, não há ainda protocolos bem estabelecidos para todos os cultivares envolvendo as melhores condições de cultivo durante a fase *in vitro* e estudos investigativos são importantes para otimização de todo o processo. Assim, o objetivo deste trabalho será estabelecer um protocolo de micropropagação clonal de *Musa* sp. cv Prata Anã a partir de inflorescências sob diferentes sistemas de luz e meios de cultivo contendo diferentes antifúngicos e antioxidantes. Para tanto, ensaios experimentais com material propagativo floral de banana *Musa* sp. cv Prata Anã (genótipo AAB) foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos do Instituto Federal de Minas Gerais de outubro de 2020 a maio de 2021. Os explantes foram expostos a diferentes antifúngicos e ágar de diferentes fabricantes, além da qualidade de luz (branca, verde, vermelha e azul) e do efeito individual ou combinado dos antioxidantes ácido ascórbico (20 mg/L) e polivinilpirrolidona (PVP) (4 g/L). O delineamento experimental é o inteiramente casualizado, com três repetições nos diferentes tratamentos. Cada repetição é constituída por um frasco contendo 1 explante floral, em um total de 4 frascos por tratamento. Como resultado, o fungicida Cerconil[®] na concentração de 1,0 g/L e o ágar comercial Dinâmica[®] na concentração de 7,0 g/L acrescentados ao meio de cultivo MS forneceram o melhor resultado de geleificação. Entretanto, nesta concentração, o antifúngico não foi capaz de reduzir os níveis de contaminação dos meios de cultivo tanto na fase de estabelecimento quanto na fase de multiplicação, com perdas consideráveis. Os tratamentos contendo PVP sozinho ou combinado com o ácido ascórbico apresentaram os melhores resultados de antioxidação. A falta de critério de seleção do material propagativo obtido de inflorescências cortadas e expostas ao ambiente em tempos diferentes pode ter comprometido a viabilidade *in vitro* dos explantes.

Palavras-Chave: Micropropagação; banana; antioxidação; cultura de tecidos

INTRODUÇÃO:

A banana é a fruta mais consumida do mundo. Em países menos desenvolvidos pode representar até 75% da renda familiar mensal dos pequenos agricultores (FAO, 2020). Está presente em todas as unidades da Federação, sendo São Paulo, Bahia, Minas Gerais e Santa Catarina importantes estados produtores (IBGE, 2020). O Brasil ocupa a quarta posição na produção mundial de banana, atrás da Índia, China e Indonésia (FAOSTAT, 2020; SHAHBANDEH, 2020).

A micropropagação é uma alternativa capaz de fornecer elevado número de mudas com alto padrão fitossanitário, qualidade e homogeneidade (SEREJO et al., 2009; GUPTA et al., 2020) com resultados de campo superiores quando comparados a plantas adultas obtidas por mudas convencionais (SALOMÃO et al., 2016). No entanto, o estabelecimento de uma metodologia eficiente e atualizada sobre o uso de inflorescências masculinas na micropropagação de bananeiras de diferentes cultivares ainda vem sendo investigado (KANNAHI, BUVANESWARI, 2018; BHAYA et al., 2019; LAKSHMI et al., 2019; ALI et al., 2020).

Diferentes órgãos da planta de bananeira podem ser utilizados como fonte de explante para micropropagação sendo o rizoma e a inflorescência os mais comuns (SEREJO et al., 2009; CARVALHO et al., 2012). Independente da fonte para obtenção de explante, cuidados com a contaminação por fungos e bactérias e a oxidação dos meios nos cultivos e subcultivos são essenciais para os procedimentos bem sucedidos de obtenção de mudas micropropagadas saudáveis (SEREJO et al., 2009; PEREIRA et al., 2020) refletindo na fase de plantio e produção no campo, incluindo o cultivar prata-anã (SALOMÃO et al., 2016).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho será estabelecer um protocolo de micropropagação de *Musa sp.* cv Prata Anã (genótipo AAB) a partir de inflorescências da planta avaliando os efeitos de diferentes fungicidas acrescentados no meio de cultivo e o melhor tratamento de exposição a diferentes qualidades de luz (branca, verde, vermelha e azul) e aos antioxidantes ácido ascórbico e polivinilpirrolidona (PVP), sozinhos ou combinados.

METODOLOGIA:

Local do experimento

Os ensaios experimentais foram conduzidos entre agosto de 2020 e maio de 2021 no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais, campus São João Evangelista (IFMG-SJE).

Pré-fase de ensaios experimentais

No início dos trabalhos experimentais pilotos (agosto e setembro 2020), duas fontes de explantes das variedades Prata Anã foram inicialmente testadas: rizoma e inflorescência ('umbigo'). Após a limpeza superficial e retirada de folhas e resíduos de solo, rizomas e inflorescência foram submetidos à desinfecção em hipoclorito de sódio (2,5% cloro ativo) por 20 min e em fungicida Cerconil (2 g/L) por 20 min. Após os procedimentos, em ensaios-piloto, parte do material vegetal foi mantida por 1 semana em estufa de secagem (3,5%) e outra parte foi mantida em geladeira.

Para obtenção dos explantes, rizomas e inflorescências foram seccionados reduzindo-se o material vegetal meristemático para cerca de 6 cm de comprimento. Em câmara de fluxo laminar horizontal (Ideoxima[®] ORG H 1270), o procedimento de desinfestação superficial utilizou solução de álcool 70%, imergindo-se o material por 30 segundos e enxaguando 3 vezes com água destilada, deionizada e autoclavada. Ainda, posteriormente, o material foi imerso em solução de hipoclorito de sódio comercial (2,5%) acrescido de do espalhante adesivo Tween[®] (4 gotas/100 ml). Em seguida, cinco enxágues com água destilada, deionizada e autoclavada finalizaram a etapa de desinfecção (SEREJO et al., 2009).

A inoculação dos explantes foi realizada em tubos de ensaio (200 mL) contendo meio de cultura MS (MURASHIGE, SKOOG, 1962). Para isso, com auxílio de pinça e bisturi, inflorescências e rizomas previamente desinfestados foram reduzidos a cerca de 1 cm de comprimento para inoculação em meio de cultura (SEREJO et al., 2009). O estabelecimento dos explantes nesta fase piloto foi conduzido em câmara de cultivo por 15 dias, sob fotoperíodo de 16 h e temperatura de 25 ± 2 °C. Foram considerados como estabelecidos os explantes vivos que, aparentemente, não apresentaram oxidação excessiva e contaminação bacteriana ou fúngica. Foi nesta pré-fase que se definiu pela escolha do material floral para os ensaios experimentais. Todos os procedimentos foram realizados em câmara de fluxo laminar previamente esterilizada com álcool 70% e radiação ultravioleta por 30 min.

Ainda na pré-fase dos ensaios experimentais pilotos, a formulação do meio de cultivo foi modificada de acordo com os tratamentos testes. Para isso, escolheu-se três marcas comerciais de ágar (Alphatec[®], Dinâmica[®], Micromed[®]) na concentração de 7,0 e 10,0 g/L, e dois fungicidas (Cerconil[®] e Cercobin[®]), nas doses de 0,5; 1,0 e 2,0 g/L. Todos os tratamentos continham o fitohormônio 6-benzilaminopurina (BAP) na dose única de 2,5 mg/L. Em função do comprometimento da geleificação do ágar dos diferentes fabricantes

combinados com os diferentes fungicidas nas concentrações testadas, os resultados obtidos nesta fase experimental direcionaram os ensaios seguintes definindo-se o ágar comercial Dinâmica® na concentração 7,0 g/L e o fungicida Cercobin® na concentração de 1,0 g/L.

Origem e seleção do material propagativo

O material propagativo experimental (“umbigo”) foi coletado em pomar comercial do Sítio Nature, localizado no município de Cantagalo – MG, no Vale do Rio Doce (18°31’09” S e 42°39’44” W). Localizado a aproximadamente 680 m de altitude, o clima da região é o tropical Aw – clima quente com chuva de verão (MARTINS et al., 2018) o índice pluviométrico médio anual é de 1.143 mm e a temperatura média anual é de 22,2 °C (climate-data.org). A propriedade conta com área de 22,57 ha cultivada com a variedade Prata Anã e 4,81 ha com a variedade Nanica, ambas irrigadas por microaspersão e todas obtidas por técnica de micropropagação para implantação do pomar. Em função da dinâmica comercial do plantio e dos tratamentos culturais conduzidos na propriedade, a data de coleta definitiva do material botânico (“umbigos”) foi estabelecida pelo proprietário para acontecer em 22 de fevereiro de 2021.

Após a coleta, todo o material passou por uma limpeza inicial com retirada de brácteas para redução do explante do material vegetal meristemático para cerca de 6 cm de comprimento. Em câmara de fluxo laminar (Ideoxima®), o procedimento de desinfestação superficial utilizou solução de álcool 70%, imergindo-se o material por 30 segundos e enxaguando 3 vezes com água destilada, deionizada e autoclavada. Ainda, posteriormente, o material foi imerso em solução de hipoclorito de sódio comercial (2,5%) acrescido de do espalhante adesivo Tween® (4 gotas/100 ml). Em seguida, cinco enxágues com água destilada, deionizada e autoclavada finalizaram a etapa de desinfecção (SEREJO et al., 2009). Todos os procedimentos foram realizados em câmara de fluxo laminar previamente esterilizada com álcool 70% e radiação ultravioleta por 30 min.

Meio de Cultivo

O meio de cultura básico (MURASHIGE, SKOOG, 1962) foi formulado a partir de água destilada e deionizada, acrescido de sacarose (30 g/L), com pH ajustado para $5.8 \pm 0,1$ (MS Tecnopon mPA-210®). Todos os materiais, instrumentais e vidraria foram esterilizados em autoclave vertical (Phoenix®) por 20 min (121 °C e 1,0 kgf/cm²). Como definido na fase de pré-ensaios (item 3.2), o ágar comercial utilizado foi o da marca Dinâmica® na concentração 7,0 g/L e o fungicida acrescido na formulação do meio de cultivo foi o da marca Cercobin® na concentração de 1,0 g/L.

Ensaio de Antioxidação

Foram conduzidos ensaios experimentais investigando o efeito antioxidante de Polivinilpirrolidona (PVP, Dinâmica®) na concentração de 4 g/L, ácido ascórbico (Dinâmica®) a 20 mg/L e um terceiro tratamento contendo ambos nas mesmas concentrações.

Arranjo experimental

O experimento final foi conduzido em delineamento experimental inteiramente ao acaso, com 3 tratamentos e 3 repetições. Cada repetição é constituída por um frasco contendo 1 explante floral, em um total de 4 frascos por tratamento.

Fase de Estabelecimento

A fase de estabelecimento iniciou-se em 23/2/2021 e durou 30 dias. Com auxílio de pinça e bisturi, inflorescências previamente desinfestadas e reduzidas a cerca de 1 cm de comprimento foram inoculadas em tubos de ensaio padrão contendo 10 mL meio de cultura MS acrescidos com fungicida Cercobin® (1,0 g/L) e com o fitohormônio BAP (2,5 mg/L). Após os procedimentos, os tubos tiveram sua extremidade vedada com filme plástico adesivado. O efeito antioxidante de PVP (4 g/L), ácido ascórbico (20 mg/L) e da combinação entre eles (PVP 4 g/L + ácido ascórbico 20 mg/L) também foi verificado. Todos os

procedimentos foram realizados em câmara de fluxo laminar previamente esterilizada com álcool 70% e radiação ultravioleta por 30 min.

Todos os tratamentos foram mantidos inicialmente em sala escura por sete dias. Após este tempo, os explantes foram transferidos para a sala de cultivo sob fotoperíodo de 16 h e temperatura de 25 ± 2 °C e mantidos por 21 dias em diferentes condições de qualidade de luz: escuro, ambiente natural, luz branca, luz verde, vermelha e azul (Foxlux[®] Led Bulbo 7W). Foram considerados como estabelecidos os explantes vivos que, aparentemente, não apresentaram senescência, contaminação bacteriana ou fúngica. A oxidação foi avaliada em ausente, intermediária ou elevada.

3.8 Fase de multiplicação

Com base nos critérios de senescência, contaminação e oxidação, os explantes considerados viáveis na fase de estabelecimento (item 3.7.) foram reinoculados em tubos de ensaio com meio de cultura MS (10 mL) contendo agora o fitormônio BAP na concentração de 4,5 mg/L, além do fungicida Cercobin[®] (1,0 g/L) e dos antioxidantes PVP (4 g/L), ácido ascórbico (20 mg/L). Após os procedimentos, os tubos tiveram sua extremidade vedada com filme plástico adesivado. Esta fase de multiplicação perdurou por 60 dias e foram considerados como estabelecidos os explantes vivos que, aparentemente, não apresentaram necrose, oxidação excessiva e nem contaminação bacteriana ou fúngica. Todos os procedimentos foram realizados em câmara de fluxo laminar previamente esterilizada com álcool 70% e radiação ultravioleta por 30 min.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Pré-fase experimental

Nos ensaios da pré-fase, duas fontes de explantes da cultivar Prata Anã foram testadas: rizoma e inflorescência ('umbigo'). A avaliação do experimento piloto e os resultados iniciais obtidos em novembro e dezembro de 2020 permitiram definir a inflorescência como a fonte experimental de explantes. Pelos níveis de contaminação e oxidação observados em câmara de cultivo, pela praticidade e disponibilidade de aquisição do material experimental vegetal em campo, decidiu-se pela utilização das inflorescências.

Ensaio da formulação do meio de cultivo

Os resultados preliminares indicaram ser o fungicida Cerconil[®] na concentração de 1,0 g/L e o ágar comercial Dinâmica[®] na concentração de 7,0 g/L a melhor combinação experimental. As outras marcas comerciais do ágar nas concentrações testadas combinados com diferentes dosagens do fungicida Cercobin[®] apresentaram comprometimento na geleificação do meio em diferentes graus, o que poderia interferir no estabelecimento dos explantes.

Fase de estabelecimento

A fase de estabelecimento compreendeu 30 dias de cultivo, em que os explantes foram mantidos inicialmente no escuro (7 dias) e depois 21 dias sob diferentes condições de qualidade de luz: escuro, ambiente natural, luz branca, luz verde, vermelha e azul. Os resultados estão apresentados na **Tabela 1**.

Os tratamentos contendo ácido ascórbico exibiram maiores níveis de oxidação quando comparados ao PVP ou ao tratamento combinatório (PVP + Ácido Ascórbico). A oxidação no microcultivo de bananeiras é um processo proporcionado por compostos fenólicos dos tecidos vegetais da espécie e podem comprometer a disponibilidade de nutrientes e a sobrevivência dos explantes (PASQUAL et al., 1997; CARVALHO et al., 2012). De modo geral, as maiores perdas por senescência dos explantes ocorreram no tratamento envolvendo ambos os antioxidantes adicionados no meio de cultivo. Em praticamente todas as repetições, pelo menos 1 explante apresentava contaminação visível por fungos, sendo que os maiores níveis de contaminação foram no tratamento envolvendo ambos os antioxidantes. Nesta fase do estabelecimento, o

acréscimo de fungicida Cerconil® na concentração de 1,0 g/L não apresentou vantagem experimental, e o número de explantes estabelecidos que não apresentavam contaminação disponíveis para a fase de multiplicação ofereceu algumas restrições. Os dados aqui obtidos foram discrepantes aos encontrados por Pereira et al. (2020), que encontraram em seus ensaios os melhores resultados para microcultivo de bananeira quando os explantes foram desinfectados a 2% de cloro ativo. Oxidações e contaminações são fatores importantes no insucesso da micropropagação de muitas culturas incluindo banana (SEREJO et al., 2009; RONDON et al. 2019; PEREIRA et al., 2020)

Os tratamentos 1 e 3 exibiram os melhores resultados antioxidantes, o que pode ser devido ao PVP (polivinilpirrolidona) em sua formulação com poder antioxidante mais efetivo que o apresentado pelo ácido ascórbico sozinho (tratamento 2). O PVP é um antioxidante que promove a adsorção das substâncias que provocam a oxidação (fenóis) por meio de ligações de hidrogênio (PASQUAL et al., 1997).

Fase de multiplicação

A fase de multiplicação compreendeu 60 dias de cultivo, em que os explantes considerados viáveis e estabelecidos foram mantidos sob diferentes condições de qualidade de luz: ambiente natural, luz branca, luz verde, vermelha e azul. Os explantes mantidos no escuro por 1 mês foram transferidos para a câmara de crescimento com luz branca. Os resultados estão apresentados na **Tabela 2**.

Tabela 1. Número de explantes viáveis estabelecidos na fase de estabelecimento (30 dias) sob cultivo em meio MS formulado com fungicida Cerconil® (1,0 g/L) e ágar (7,0 g/L) em três tratamentos (T1, T2, T3) com três repetições (R1, R2, R3), sob diferentes sistemas de luz (escuro, ambiente, luz branca, vermelha, verde e azul) e concentrações dos oxidantes PVP (4g/L) e ácido ascórbico (20 mg/L) isolados ou combinados nas mesmas concentrações.

T	R	Escuro		Ambiente		Branca		Vermelha		Verde		Azul	
		EE	OX	EE	OX	EE	OX	EE	OX	EE	OX	EE	OX
T1	R1	1	+	2	-	2	+	1	+	1	+	0	+
	R2	2	++	0	++	1	++	4	++	2	++	2	+
	R3	1	-	0	+	2	+	3	+	3	+	0	+
T2	R1	4	++	3	++	4	++	3	+	3	+++	2	++
	R2	3	+++	3	++	1	++	2	+	3	+++	3	+++
	R3	3	+++	3	+++	4	+++	4	++	3	+++	4	+++
T3	R1	0	++	0	++	1	++	0	+	0	++	2	++
	R2	0	-	0	+	0	+	0	+	0	+	2	+
	R3	1	+	0	++	0	-	0	+	0	+	0	++

Legenda: T1: PVP (4g/L); T2: ácido ascórbico (20 mg/L); T3: PVP (4g/L) + ácido ascórbico (20 mg/L); EE: Explantes estabelecidos; OX: Oxidação do meio, ausente (-); baixa (+); moderada (++); elevada (+++).

Tabela 2. Número de explantes viáveis na fase de multiplicação (60 dias) sob cultivo em meio MS formulado com fungicida Cerconil® (1,0 g/L) e ágar (7,0 g/L) em três tratamentos (T1, T2, T3) com três repetições (R1, R2, R3), sob diferentes sistemas de luz (escuro, ambiente, luz branca, vermelha, verde e azul) e diferentes concentrações dos oxidantes PVP (4g/L), ácido ascórbico (20 mg/L), isolados ou combinados (PVP 4g/L + ácido ascórbico 20 mg/L).

T	R	Escuro-branca		Ambiente		Branca		Vermelha		Verde		Azul	
		EE	OX	EE	OX	EE	OX	EE	OX	EE	OX	EE	OX
T1	R1	0	-	0	++	0	-	0	++	1	++	0	-
	R2	0	+	-	-	0	+++	0	+++	0	++	0	++
	R3	0	-	-	-	0	+	0	-	0	-	-	-
T2	R1	0	+	0	+++	0	++	0	+++	0	+++	0	++
	R2	0	+	0	+++	0	-	0	-	0	+++	2	+++
	R3	1	+++	0	+++	0	+++	0	+++	0	+++	2	+++
T3	R1	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	0	-
	R2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-
	R3	0	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: T1: PVP (4g/L); T2: ácido ascórbico (20 mg/L); T3: PVP (4g/L) + ácido ascórbico (20 mg/L); EE: Explantes estabelecidos; OX: Oxidação do meio, ausente (-); baixa (+); moderada (++); elevada (+++).

A perda elevada de explantes na fase de estabelecimento limitou uma análise mais ampla do experimento na fase de multiplicação. Praticamente todos os tratamentos apresentaram contaminações por fungos ou bactérias. Os explantes mantidos sob luz branca e aqueles expostos ao ambiente natural exibiram menor taxas de contaminação aparente. Dos explantes viáveis, o nível de oxidação manteve-se entre o moderado e o elevado.

Não foi utilizado carvão ativado na fase de estabelecimento nem na fase de multiplicação. O carvão ativado é empregado nos microcultivos de diversas culturas com o objetivo de redução dos níveis de oxidação e sua utilização combinada com os antioxidantes poderia ter contribuído para resultados mais promissores. No entanto, Rondon et al. (2019) não encontraram diferenças significativas nos ensaios de micropropagação de explantes obtidos de rizomas de banana terra, nanica e prata, mas verificaram benefícios no controle da contaminação ao empregarem hipoclorito de sódio a 2%. Pereira et al. (2015) encontraram níveis consideráveis de contaminação e oxidação em microcultivos de banana cultivar "Thap maeo". Por outro lado, como diferentes cultivares de banana respondem fisiologicamente de maneira diferente *in vitro* aos fitormônios (DARVARI et al., 2010), ensaios investigativos da melhor faixa concentração de BAP e para microcultivo da prata-anã também poderão fornecer resultados mais promissores.

Ensaio envolvendo a investigação do efeito da autoclavagem nos tratamentos podem fornecer boa discussão. Neste contexto, avaliar o efeito dos antioxidantes e antifúngicos acrescentados em meios de cultura antes e após a autoclavagem pode contribuir para melhor compreensão dos resultados aqui obtidos.

Limitações experimentais na condução deste trabalho foram verificadas na obtenção das inflorescências. A coleta ficou dependente da rotina e dos tratamentos culturais conduzidos na propriedade rural. Com isso, pela quantidade de inflorescências disponíveis, foi coletada a maior quantidade encontrada no solo do bananal comercial. Desse modo, os explantes utilizados nos ensaios experimentais *in vitro*, portanto, provinham de material botânico de diferentes idades e tempo de corte variável. Portanto, a falta de um critério de padronização do tempo de corte das inflorescências coletadas pode ter interferido na viabilidade do material propagativo.

CONCLUSÕES:

O fungicida Cerconil[®] na concentração de 1,0 g/L e o ágar comercial Dinâmica[®] na concentração de 7,0 g/L acrescentados ao meio de cultivo MS forneceram o melhor resultado de geleificação. Entretanto, nesta concentração, o antifúngico não foi capaz de reduzir os níveis de contaminação dos meios de cultivo. Os tratamentos contendo PVP sozinho ou combinado com o ácido ascórbico apresentaram os melhores resultados de antioxidação. O material propagativo obtido de inflorescências cortadas e expostas ao ambiente em tempos diferentes pode ter comprometido a viabilidade *in vitro* dos explantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Ali, M, Nizamani, GS, Khan, MT, Yasmeen, S, Siddiqui, A, Khan, IA, Khaskheli, MA. Implications of *in vitro* mutagenesis in banana (*Musa* spp.). *Pure Appl Biol*, 9(1), 20-26. 2019.
- Bebber, DP. Climate change effects on Black Sigatoka disease of banana. *Philos Trans Royal Soc B*, 374(1775), 20180269, 2019.
- Bhaya, MHM, Al-RazzaqSalim, S. Impacts of plant growth regulators and light quality on banana (*Musa* spp) micropropagation. *Plant Arch*, 19(1), 1379-1385, 2019.
- Carvalho, ACPP, Rodrigues, AAJ, Santos, EO. Produção de mudas micropropagadas de bananeira. Circular técnica, v. 37, p. 1-14, 2012.
- Climate-data.org. **Clima do Rio Doce**. Disponível em: <<https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/minas-gerais/rio-doce-176205/>> Acesso em: 17 fev. 2021.
- Damasceno, CL, Duarte, EAA, Santos, LBPR, Oliveira, TAS, Jesus, FN, Oliveira, LM, Soares, ACF. Postharvest biocontrol of anthracnose in bananas by endophytic and soil rhizosphere bacteria associated with sisal (*Agave sisalana*) in Brazil. *Biol Control*, 137, 104016, 2019.
- FAO, 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>> Acesso em 12 fev. 2020.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Banana facts and figures <<http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/bananas/bananafacts/en/#.XjmgrWhKjIU>> Acesso em 04 fev. 2020.
- George, EF. Plant propagation by tissue culture. 2. ed. Exegetic Ltd., London, UK., 1993. 457p.
- Germanà, MA, Aleza, P, Grosser, JW, Dutt, M, Wang, N, Cuenca, J, Kaur, P. Citrus biotechnology. In *The Genus Citrus*, Woodhead Publishing, pp. 171-192, 2020.
- Gupta, N., Jain, V., Josepeh, M. R., & Dev, S. A Review on Micropropagation Culture Method. *Asian J Pharm Res Develop*, 8(1), 86-93, 2020.
- IBGE, 2020. Levantamento sistemático da produção agrícola. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Brasil. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618#resultado>> Acesso em 12 fev. 2020.
- Kabylbekova, B, Kovalchuk, I, Mukhitdinova, Z, Turdiyev, T, Kairova, G, Madiyeva, G, Reed, BM. Reduced major minerals and increased minor nutrients improve micropropagation in three apple cultivars. *In Vitro Cell Develop Biol Plant*, 1-15, 2020.
- Kannahi, M, Buvaneswari, R. Review on micropropagation of *Musa Accuminata* I. *Asian J Multidim Res AJMR*, 8(3), 147-163, 2019.
- Lakshmi, KS, Bhaskar, J, Suma, A, Pushpalatha, PB. Induction of multiple shoots through *in vitro* male bud culture in banana *Musa* (AA) cv. 'Kadali'. *J Trop Agric*, 57(1), 2019.
- Liu, S, Li, J, Zhang, Y, Liu, N, Viljoen, A, Mostert, D, Sheng, O. Fusaric acid instigates the invasion of banana by *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense TR4. *New Phytol*, 225(2), 913, 2020.
- Martin, G, Cardi, C, Sarah, G, Ricci, S, Jenny, C, Fondi, E, Yahiaoui, N. Genome ancestry mosaics reveal multiple and cryptic contributors to cultivated banana. *Plant Journal*, 1-18, 2020.
- Martins, FB, Gonzaga, G, Santos, DF, Reboita, MS. Classificação climática de Köppen e de Thornthwaite para Minas Gerais: Cenário atual e projeções futuras. *Revista Brasileira de Climatologia*. Ano 14 – Edição Especial Dossiê Climatologia de Minas Gerais, 2018.
- Moshtaghi, N. Tissue and cell culture of saffron. In *Saffron*, Woodhead Publishin, 229-246, 2020.
- Murashige, T; Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 15(3), 473-497, 1962.
- Ng, ZC, Tan, SH, Mahmud, S, Radiyah, SH, Ma, NL. Preliminary Study on Micropropagation of *Hylocereus polyrhizus* with Waste Coconut Water and Sucrose. In *Materials Science Forum*. Trans Tech Publications Ltd. 981, 316-321, 2020.
- Page, SR, Monthony, AS, Jones, AMP. Basal media optimization for the micropropagation and callogenesis of *Cannabis sativa* L., *Biorxiv*. 1-23, 2020.
- Pasqual M; Hoffmann, A; Ramos JD. 1997. Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações – introdução: fundamentos básicos. Lavras: UFLA/FAEPE. 159 p.

- Pereira, GA; Boliani, AC; Correa, LS. Desinfestação e estabelecimento *in vitro* de explantes de bananeira 'Thap maeo' (sub grupo AAB) submetidos a concentrações de cloro ativo. *Comunicata Scientiae*, v. 6, n. 4, p. 412-417, 2015.
- Pereira, WJ, Issa, CGC, Pinto, AF, Lemos, DCS, Barbosa, AM, Pereira, KC., Vieira, CM. Estabelecimento *in vitro* de bananeiras em diferentes meios de cultura submetidas a agentes antioxidantes. *Braz J Develop*, 6(1), 4973-4984, 2020.
- Rocha, PSG, Oliveira, RP, Scivittaro, WB, Mosele, SH. Uso de LEDs na multiplicação *in vitro* de três cultivares de bananeira. *Rev Colomb Cienc Hort*, 11(2), 247-252, 2017.
- Rodriguez, MAD, Haddad, F, Parizzi, P, Raski, RK, Lohmann, TR. Raça 4 tropical de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*: subsídios para caracterização de praga quarentenária ausente. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília : MAPA/SDA, 2018.
- Rondon, MJP, Sousa, TI, Araujo, DAM, Araujo, IS, Fernandes, DA. Benefícios do carvão ativado no meio de cultura para os explantes de banana prata, nanica e terra. *Connection line - Revista Eletrônica UNIVAG*, n. 21, p. 71-82, 2019.
- Salomão, LCC, Siqueira, DL, Lins, LCR, Cecon, PR. Crescimento e produção da bananeira (*Musa spp.* AAB) 'Prata-Anã, oriunda de rizoma e micropropagada. *Rev Ceres*, Viçosa, 63(3), 340-347, 2016.
- Sarkar, J, Banerjee, N. Influence of different cytokinins on micropropagation of an important medicinal plant, *Solanum erianthum* D. Don, and assessment of the genetic fidelity of the regenerants. *In Vitro Cell Develop Biol Plant*, 1-11, 2020.
- Sayed, SS, Gabr, AMM, Amin, MA, Taha, LS. Biochemical characterization of micropropagated *Ceratonia siliqua* L. under effect of growth regulators and light quality. *Bulletin of the National Research Centre*, 44(1), 1-7, 2020.
- Sedlak, J, Paprstein, F. Micropropagation of Rosaceous Species SAM Grown in Temperate Climate. In *Plant Stem Cells Humana*, New York, NY, 127-136, 2020.
- Selvakumar, S, Parasurama, DS. Maximization of micropropagule production in banana cultivars *Grand naine* (AAA) and *Elakki* (AB). *In Vitro Cell Develop Biol Plant*, 1-11, 2020.
- Serejo, JAS, Souza, ADS., Souza, FVD, Junghans, TG, Lino, LSM, Soares, TL, Souza, EH.. Micropropagação da bananeira. Embrapa Mandioca e Fruticultura-Capítulo em livro científico. p. 237-257, 2009.
- Shahbandeh, M. Major producers of bananas worldwide. 2020. Disponível em: <<https://www.statista.com/statistics/811243/leading-banana-producing-countries/#statisticContainer>> Acesso em 12 fev. 2020.
- Sharma, N, Acharya, S, Kumar, K, Singh, N, Chaurasia, OP. Hydroponics as an advanced technique for vegetable production: *An overview*. *J Soil Water Conserv*, 17(4), 364-371, 2018.
- Simmonds NW, Shepherd K. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. *J Linn Soc Bot*, London, 55, 302-312, 1955.
- Smith, MK, Rouard, M, Sardos, J, Roux, N. Musaceae: Musa banana e plantains. In: Litz, RE et al. (Eds.). *Biotechnology of Fruit And Nut Crops*, 2ª ed. *CAB International*, 14, 314-330, 2020.
- Toyosumi, IS. Aclimatização de mudas de bananeira 'Prata Anã' em sistema de hidropônico. Dissertação. Cruz das Almas. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 56p. 2019.
- Tumuhimbise, R, Talengera, D. Improved propagation techniques to enhance the productivity of banana (*Musa spp.*). *Open Agricult*, 3(1), 138-145, 2018.
- Ventura, JA, Lima, IDM., Martins, MVV, Culik, MP., Costa, H. Impact and management of diseases in the propagation of fruit plants. *Rev Bras Frut*, 41(4), 2019.
- Vincent, L, Anushma, PL. Micropropagation in banana using inflorescence: A review. *J Cell Tissue Res*, 18(3), 6573-82, 2018.
- Zaib-Un-Nisa, AHS, Shah, SH, Farooq, G, Sajad, MA, Khan, MAS. Effects of natural growth regulators on micropropagation of potatoes. *Pure Appl Biol*, 9(2), 1442-59, 2020.