

45

Circular Técnica

Fortaleza, CE
Agosto, 2014

Autores

Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho
Bióloga, D.Sc. em Genética,
pesquisadora da Embrapa
Agroindústria Tropical,
Fortaleza, CE,
cristina.carvalho@embrapa.br

José Dionis Matos Araújo
Engenheiro-agrônomo, M.Sc.
em Fitotecnia pela Universidade
Federal do Ceará, Fortaleza, CE,
dionisufc@gmail.com

Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini
Engenheira-agrônoma, D.Sc.
em Fitotecnia, professora da
Universidade Federal do Ceará,
Fortaleza, CE, candida@ufc.br

Antonio Marcos Esmeraldo Bezerra
Engenheiro-agrônomo, D.Sc.
em Fitotecnia, professor da
Universidade Federal do Ceará,
Fortaleza, CE, esmeraldo@ufc.br

Pedro Felizardo Adeodato de Paula Pessoa
Administrador, M.Sc. em Economia
Rural, pesquisador da Embrapa
Agroindústria Tropical,
Fortaleza, CE,
pedro.pessoa@embrapa.br

Redução de Custos na Produção de Mudas Micropropagadas de Bananeira cv. Williams

Introdução

O cultivo da bananeira é uma atividade de grande importância econômica e social no mundo. Entre as fruteiras tropicais, é uma das culturas de maior produção, constituindo uma fonte contínua de alimento e renda aos produtores (SCHERWINSKI-PEREIRA et al., 2009). Contribui significativamente para a segurança alimentar de milhões de pessoas nos países em desenvolvimento, devido principalmente ao seu alto valor nutritivo e custo relativamente baixo (GOVINDARAJU et al., 2012).

O Brasil é um dos principais produtores mundiais de banana. Em 2012, destacou-se como o quinto produtor mundial, com uma produção de 6.902.184 toneladas, em 503.354 ha (FAOSTAT, 2012).

As bananeiras frutificam em todo o País, desde o litoral até os planaltos do interior, em altitudes que variam de zero a mais de 1.000 m. Os estados de maior destaque na produção são Bahia, São Paulo, Ceará, Minas Gerais, Santa Catarina e Rio Grande do Norte, sendo as variedades mais cultivadas Nanicão, Grande Naine, Prata Anã, Maçã e Terra (NOMURA, 2013). Não obstante, quando são levados em conta fatores tais como a preferência dos consumidores, a produtividade, a tolerância a pragas e doenças, a resistência à seca e ao frio e o porte da planta, poucas cultivares apresentam potencial agrônômico que as torne indicadas para fins comerciais, sendo ainda mais reduzido o número de cultivares que produzem frutos com as características necessárias para exportação (SILVA, 2000). Com relação às cultivares de mesa para consumo in natura, somente as do grupo AAA, subgrupo Cavendish ('Nanicão', 'Grand Naine' e 'Williams'), satisfazem esse requisito, e, entre as que são consumidas cozidas, as cultivares do grupo AAB, subgrupo Terra, são as mais usadas.

Propagação

A maioria das variedades de bananeira cultivadas comercialmente é propagada de forma assexuada, utilizando-se tradicionalmente as brotações laterais desenvolvidas a partir do rizoma da planta matriz. Esse método convencional de

propagação resulta em baixa produção de mudas/planta matriz/ano. Segundo Santos-Serejo et al. (2009), dependendo do genótipo utilizado, são obtidas de 10 a 30 mudas/ano. Além do pequeno número de mudas produzidas, esse método pode também ocasionar a disseminação de pragas e doenças, constituindo-se num dos principais fatores limitantes da expansão da bananicultura (ROELS et al., 2005). Essas limitações conduziram ao desenvolvimento de técnicas mais eficientes de produção de mudas, entre elas a micropropagação.

Micropropagação

A produção em larga escala de mudas de bananeira tem sido realizada em laboratório mediante a técnica de micropropagação ou propagação *in vitro*. A metodologia consiste em isolar, sob condições assépticas, ápices caulinares e/ou gemas laterais a partir de rebentos (rizomas) de plantas matrizes vigorosas e produtivas, e colocá-los em meio de cultura, visando à formação de novas brotações, em condições controladas de cultivo (CARVALHO et al., 2012b).

Os primeiros relatos sobre a cultura de tecidos de bananeira datam do início da década de 1970, em Taiwan, quando Ma e Shii (1972) produziram brotos adventícios a partir de ápices caulinares. Depois desse trabalho, em Honduras, Berg e Bustamante (1974) empregaram a cultura de meristema em associação com a termoterapia para a obtenção de mudas livres de vírus. Desde então, vários pesquisadores têm trabalhado em diferentes aspectos da cultura de tecidos de bananeira, visando maximizar a produção de mudas. Por conseguinte, desde 1985, são comercializadas mudas de bananeira produzidas por meio da micropropagação, que constitui, atualmente, o principal método de obtenção de plantas de alta qualidade genética e fitossanitária, com aplicação comercial em vários países (ROCHA, 2005).

Mudas micropropagadas de bananeira apresentam várias vantagens em relação às obtidas pelos métodos convencionais de propagação vegetativa, tais como: altas taxas de multiplicação, uniformidade fisiológica, manutenção da identidade genética e obtenção de plantas livres de doenças e pragas (GOVINDARAJU et al., 2012). Plantas micropropagadas apresentam

uma maior taxa de sobrevivência no campo e crescem mais rapidamente nos primeiros estádios de desenvolvimento do que mudas convencionais (ARIAS, 1993). Além disso, são precoces na emissão de brotações e produzem mais mudas por ano (PEREIRA et al., 2001). Também apresentam maior precocidade na indução floral, antecipando o florescimento em até quatro meses (ZERDA, 1991). Exibem uniformidade de produção, colheitas sincronizadas e superiores às das plantas oriundas de propagação convencional (DREW; SMITH, 1990). Mudanças micropropagadas de bananeira produzem 30% a mais do que as obtidas convencionalmente (SANADA, 1993), apresentam maior vigor, maior número de dedos por penca, maior número de pencas por cacho e menor incidência de nematoides em áreas contaminadas (ORELLANA et al., 1991; QUYNH; UYEN, 1993). Outra vantagem da produção de mudas *in vitro* é que essa técnica independe da estação do ano, demandando menos tempo e menor área necessária para a propagação da bananeira (ERIG; SCHUCH, 2005).

Os principais fatores limitantes para o aumento do uso de mudas micropropagadas de bananeira têm sido a falta de divulgação dessa tecnologia para os produtores, a baixa oferta e, principalmente, o alto custo das mudas (GITONGA et al., 2010), especialmente nos países em desenvolvimento. Sendo assim, é fundamental que sejam desenvolvidos protocolos de micropropagação de mudas de bananeira mais eficientes e seguros. Segundo Lemos et al. (2001), esses processos devem garantir tanto a fidelidade genética quanto a qualidade dos materiais que são colocados à disposição dos agricultores a preços cada vez mais reduzidos.

No Brasil, o uso de mudas micropropagadas para implantação de novas áreas de cultivo tem apresentado crescimento significativo nos últimos 10 anos, principalmente por produtores mais tecnificados. Para Scherwinski-Pereira et al. (2009), tal fato se deve principalmente ao aumento da ocorrência de pragas importantes na cultura da bananeira e à possibilidade de disseminação dessas pragas por métodos convencionais de propagação. Aliadas a esses aspectos, têm-se as exigências de órgãos de fiscalização quanto ao sistema de produção de mudas certificadas.

O número de biofábricas (empresas que produzem e comercializam mudas micropropagadas) dedicadas à produção de mudas de bananeira vem crescendo a cada ano e, em 2013, chegou a representar 91,7% a mais do que no ano de 2008, quando havia apenas 12 biofábricas. Esse número aumentou para 23 entidades em 2012 (CARVALHO et al., 2012a).

O processo de produção de mudas micropropagadas de bananeira tem início a partir de uma rigorosa seleção de plantas matrizes, seguida das fases de estabelecimento (fase I), multiplicação (fase II) e enraizamento/alongamento (fase III) *in vitro*, sendo as plantas obtidas submetidas à aclimatização em casa de vegetação ou telado (fase IV). Segundo Costa et al. (2008b), a fase de enraizamento/alongamento *in vitro* é considerada fundamental para a maioria das espécies, já que a obtenção de um sistema radicular funcional e uniforme é requisito básico para que se alcancem elevadas taxas de sobrevivência das mudas na fase de aclimatização.

Condições de cultivo *in vitro* na produção de mudas micropropagadas de bananeira

As condições de cultivo *in vitro* são variáveis na produção de mudas micropropagadas de bananeira, envolvendo meio de cultura, tipo e volume de recipiente, temperatura, fotoperíodo, intensidade de luz, etc. (Tabela 1). A definição das condições ambientais ideais para cada fase do processo é de grande importância, embora poucos sejam os estudos realizados com esse objetivo (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Uma grande variedade de recipientes está disponível, no mercado, para uso na cultura de tecidos de plantas. Prakash et al. (2004) ressaltam que tanto o desempenho *in vitro* da cultura quanto o custo do recipiente devem ser levados em consideração como critérios importantes na escolha do tipo mais adequado.

Os recipientes mais empregados na cultura de tecidos de plantas são transparentes, de modo que as culturas possam receber iluminação e serem avaliadas com facilidade. Tanto recipientes de vidro quanto de plástico são recomendados. Entretanto,

os de plástico variam consideravelmente em relação à durabilidade, podendo ser degradados durante a autoclavagem. De uma forma geral, os recipientes de plástico transparente que suportam maior número de autoclavagens e lavagens possuem um custo mais elevado (GEORGE, 1993). Além disso, a esterilização em autoclave repetidas vezes pode tornar o material menos transparente (mais turvo), reduzindo a passagem de luz para as culturas (PRAKASH et al., 2004) e dificultando a identificação de possíveis contaminantes. Ultimamente, os recipientes estão sendo confeccionados de polipropileno, policarbonato e poliestireno, materiais mais resistentes às autoclavagens sucessivas (PRAKASH et al., 2004).

O tamanho e o formato do recipiente influenciam diretamente no crescimento *in vitro* das culturas. Conforme George (1993), o volume mínimo recomendado para a fase II é de 60,0 mL a 100,0 mL, mas resultados superiores podem ser obtidos em recipientes com capacidade de 200,0 mL. Segundo esse autor, a quantidade de meio de cultura colocado por recipiente geralmente varia de 20% a 30% de seu volume total para os de menor capacidade, e de 20% para os de maior capacidade.

O volume interno do recipiente também pode afetar a morfogênese *in vitro*. Segundo Bateson et al. (1987), isso se deve provavelmente às diferentes concentrações de gases como oxigênio, dióxido de carbono, etileno e de outras substâncias voláteis presentes no espaço interno dentro do recipiente.

Outro fator que pode influenciar o crescimento *in vitro* das plantas é o tipo de vedação dos recipientes. Eles necessitam ser vedados para impedir a entrada de microrganismos; entretanto, o tipo de vedação a ser usado deve permitir a troca gasosa. Na produção de mudas micropropagadas em larga escala, os recipientes geralmente são vedados com tampas de rosca de polipropileno autoclaváveis que permitam boa troca gasosa (Prakash et al., 2004).

Devido à variação de respostas das culturas *in vitro*, em função do recipiente, não é possível recomendar um determinado tipo sem a realização prévia de ensaios para cada uma das fases da micropropagação. O tipo ideal deve ser determinado experimentalmente, levando-se em

consideração fatores como o material de que o recipiente é feito (vidro ou plástico permeável a gás), tipo de vedação, volume de meio de cultura utilizado por recipiente e densidade de inoculação, isto é, número de explantes empregados por recipiente, bem como a relação da quantidade de meio de cultura por explante (GEORGE, 1993).

Em levantamento realizado nos últimos cinco anos, advindo de literatura publicada sobre a produção de mudas micropropagadas de bananeira, observou-se que um pequeno número de trabalhos apresenta informações sobre tipo (plástico ou vidro) e volume de recipiente, bem como quantidade de meio de cultura usado por recipiente. Constatou-se que são usados recipientes de diversos tamanhos, e que a quantidade de meio de cultura colocada por frasco também varia bastante. Nos artigos onde esses detalhes são informados, constatou-se que a maioria é de vidro e que a capacidade dos frascos varia de 175,0 mL até 500 mL (Tabela 1). Entretanto, os mais usados são os de vidro do tipo “frasco de maionese”, com capacidade de 220,0 mL a 250,0 mL vedados com tampas plásticas (CARVALHO et al., 2012b).

Também é relatado o uso de tubos de ensaio de 25 mm x 150 mm (Tabela 1). Quanto à quantidade de meio de cultura usada por recipiente, as informações são variadas, sendo citadas 30,0 mL para frascos de 200,0 mL até 60,0 mL para frascos de 500,0 mL, e, para os tubos de ensaio, é citada a quantidade de 20,0 mL (Tabela 1). Quanto à quantidade de meio de cultura utilizada por explante, os valores oscilam de 6,0 mL até 20,0 mL (Tabela 1).

A iluminação artificial das culturas nas salas de crescimento é um dos procedimentos mais onerosos na cultura de tecidos de plantas. Como esse tipo de iluminação gera calor, é necessária a refrigeração das salas de crescimento, contribuindo ainda mais para aumentar os custos com energia. Segundo Ahloowalia e Savangikar (2004), a mudança da iluminação artificial para a luz natural é uma alternativa que reduz significativamente os custos de produção das mudas. De acordo com Rocha (2009), uma opção seria que as salas de crescimento fossem dotadas de iluminação artificial para as culturas em fase de multiplicação e de luz natural para aquelas em fase de alongamento e enraizamento. Entre as justificativas para o uso de

luz natural nessa fase, o autor aponta a indução de um metabolismo mais próximo da condição autotrófica para os explantes, promovendo sua rusticificação e, como consequência direta, redução significativa das perdas na fase posterior de aclimatização.

A iluminação artificial é geralmente fornecida por lâmpadas fluorescentes do tipo grow-lux por apresentarem boa emissão no vermelho, o que é particularmente importante para induzir atividade fotossintética aos explantes (ROCHA, 2009). A utilização de lâmpadas fluorescentes brancas é citada em 90% dos trabalhos de pesquisa com cultura de tecidos de plantas, como a fonte de luz mais disponibilizada (DOOLEY, 1991). Segundo Grattapaglia e Machado (1998), a maioria das culturas *in vitro* responde bem a intensidades luminosas de $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a $70 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Na produção de mudas micropropagadas de bananeira, são mencionadas intensidades luminosas a partir de $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ até $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Tabela 1).

Para a maioria das espécies, o fotoperíodo tende a ser de dias longos (16 horas de luz por 8 horas de escuro) para evitar a indução de dormência (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Na produção de mudas micropropagadas de bananeira, em relação ao fotoperíodo, vários autores utilizam o regime de 16 horas de luz, ainda que alguns também citem o uso do regime de 12 horas de luz (Tabela 1).

A maior parte das culturas cresce satisfatoriamente em temperaturas que variam de 20 °C a 27 °C (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Na produção de mudas micropropagadas de bananeira, são citadas temperaturas de 23 °C a 30 °C (Tabela 1).

Apesar de a técnica de propagação *in vitro* da bananeira ser bastante difundida no meio científico, percebe-se que há grande variação entre os protocolos recomendados e uma deficiência de trabalhos que levem em consideração os custos de produção (LEMOS et al., 2001). Sendo assim, o objetivo desta publicação é fornecer informações sobre as condições ideais de cultivo (temperatura, fotoperíodo e tipo de recipiente) para a produção de mudas micropropagadas de bananeira cv. Williams, visando reduzir o custo de produção final da muda.

Tabela 1. Informações em relação à cultivar estudada, intensidade luminosa, fotoperíodo (horas de luz), temperatura da sala de crescimento, volume do frasco de cultivo, quantidade de meio de cultura por frasco e volume de meio de cultura por explante, em protocolos de micropropagação de bananeira.

Cultivar de banana	Intensidade luminosa	Fotoperíodo (horas de luz)	Temperatura	Volume do frasco de cultivo (mL)	Volume de meio de cultura por frasco (mL)	Volume de meio de cultura por explante	Referência
'Preciosa'	35,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	16	25 °C \pm 2 °C	250,0	40,0	8,0	Costa et al. (2008a)
'Caipira', 'Japira' e 'Preciosa'	42,0 W m ²	16	25 °C \pm 2 °C	250,0	40,0	10,0	Costa et al., 2008b
'Prata Anã'	52,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	12	25 °C \pm 2 °C	250,0	30,0	30,0	Lédo et al., 2008
'Japira', 'Maravilha', 'Pacovan Ken' e 'Preciosa'	30,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	-	25 °C \pm 2 °C	250,0	30,0	6,0	Oliveira et al., 2008
'Bari Banana-I'	2.000 lux	16	25 °C \pm 1 °C	tubo de ensaio	20,0	20,0	Al-Amin et al., 2009
'FHIA-02', 'Japira', 'Maravilha', 'Pacovan Ken' e 'Preciosa'	30,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	16	25 °C \pm 2 °C	250,0	40,0	-	Oliveira, 2009
'Apantu' e 'Oniba'	3.000 flux	16	28 °C	100,0	50,0	50,0	Buah et al., 2010
'Maçã', 'Nanicão Grande' e 'Nanicão Jangada'	50,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	16	25 °C \pm 2 °C	250,0	40,0	6,7	Camolesi et al., 2010a
'Maçã'	50,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	16	25 °C \pm 2 °C	250,0 e 500,0	40,0 e 60,0	-	Camolesi et al., 2010b
'Grande Naine'	3.000 lux	16	25 °C	-	-	-	Chavan-Patil et al., 2010
'Muunju'	-	16	27 °C \pm 1 °C	-	-	-	Gitonga et al., 2010
'Dwarf Cavendish'	50,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	16	25 °C \pm 1 °C	-	-	-	Kaçar et al., 2010
'Bucaneiro', 'Caipira', 'BRS Caprichosa', 'Fhia 18', 'BRS Garantida', 'Japira', 'Pacovan Ken', 'PA 4244', 'Preciosa', 'PV 03-76', 'Thap Maeo' e 'Tropical'	25,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	16	25 °C \pm 3 °C	300,0	40,0	13,0	Oliveira, 2010
'Malbhog'	2.000 lux	12	25 °C \pm 1 °C	250,0	50,0	50,0	Roy et al., 2010
'Berangan', 'Berangan Intan' e 'Rastali'	1.500 lux	-	27 °C \pm 2 °C	100,0	30,0	10,0	Shirani et al., 2010
'FHIA-01' e 'Prata Anã'	52,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	16	27 °C	tubo de ensaio	10,0	10,0	Souza et al., 2010
Genótipos locais	3.000 lux	-	23 °C \pm 1 °C a 30 °C \pm 1 °C	-	-	-	Ali et al., 2011
'Berangan'	31,4 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	16	28 °C	-	-	-	Jafari et al., 2011
'Caipira', 'BRS Caprichosa', 'Pacovan Ken', 'Preciosa', 'PV 03-76' e 'Thap Maeo'	25,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	16	25 °C \pm 3 °C	-	40,0	8,0	Oliveira et al., 2011
'Chingan', 'Green Red', 'Nendran', 'Njalipoovan', 'Palayankodan' e 'Robusta'	50,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	16	25 °C \pm 2 °C	-	-	-	Resmi Nair, 2011
(1)	1.500 lux a 3.000 lux	14 a 16	24 °C a 26 °C	-	-	-	Singh et al., 2011
'Rasthali'	-	16	24 °C \pm 2 °C	-	-	30,0	Govindaraju et al., 2012
'Kluai Hin'	20,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	16	25 °C	330,0	30,0	30,0	Kanchanapoom; Promsorn, 2012
'Thap Maeo'	30,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	16	23 °C \pm 2 °C e 25 °C \pm 2 °C	-	-	-	Pereira, 2012
'Maçã'	40,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	16	23 °C a 27 °C	Tubo de ensaio	20,0	20,0	Ribeiro et al., 2012
'Kabula', 'Mwazirume', 'Mpologoma', 'Musakala', 'Nakabululu', 'Nakinyika' e 'Nfuuka'	60,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	16	26 °C \pm 2 °C	-	30,0	15,0	Sadik et al., 2012
'Pisang Awak', 'Pisang Berangan', 'Pisang Mas' e 'Pisang Nangka'	180 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	16	25 °C \pm 2 °C	175,0	50,0	12,5	Sipen; Savey, 2012
'Grand Naine'	-	16	25 °C \pm 1 °C	-	40,0	8,0	Vora; Jasrai, 2012a,b
'Grande Naine'	52,5 W m ² s ⁻¹	16	25 °C \pm 2 °C	200,0	30,0	-	Asmar et al., 2013

(1) Informação não consta no trabalho

Metodologia

O estabelecimento *in vitro* das culturas foi efetuado por meio de ápices caulinares oriundos de rizomas, segundo a metodologia de Carvalho et al. (2012b). Esses rizomas foram obtidos a partir de plantas de bananeira cv. Williams, mantidas em plantios comerciais, em Limoeiro do Norte, CE.

Os materiais vegetais foram cedidos pela empresa BioClone Produção de Mudanças S.A. As culturas utilizadas para implantação dos experimentos foram obtidas por meio de ápices caulinares oriundos de rizomas, sendo efetuados seis subcultivos sucessivos durante a fase de multiplicação. Para o experimento, foram utilizadas brotações do 5º e 6º subcultivos sucessivos. As culturas que estavam no quinto subcultivo foram utilizadas no experimento referente à fase de multiplicação (fase II), e as que estavam no sexto subcultivo foram usadas no experimento referente à fase de alongamento e enraizamento (fase III).

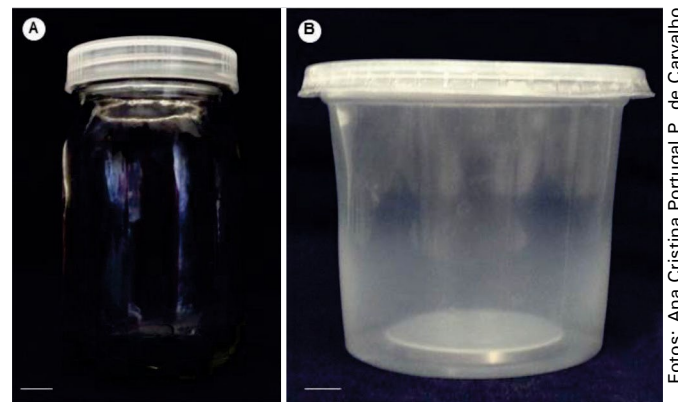
O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos e Genética Vegetal da Embrapa Agroindústria Tropical.

O meio de cultura utilizado foi o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) (Tabela 2), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, pH ajustado para 5,8, solidificado com 5,5 g L⁻¹ de Agargel® e esterilizado em autoclave a 121 °C, por 20 minutos.

Tabela 2. Componentes do meio básico de Murashige e Skoog (1962) utilizado para a produção de mudas micropropagadas de bananeira cv. Williams.

Componente	Concentração final (mg L ⁻¹)
NH ₄ NO ₃	1.650
KNO ₃	1.900
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
CaCl ₂ .2H ₂ O	440
MnSO ₄ .4H ₂ O	22,3
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
H ₃ BO ₃	6,200
KI	0,830
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,250
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37,250
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,850
Piridoxina HCl	0,500
Ácido nicotínico	0,500
Glicina	2,000
Tiamina HCl	0,100
Mioinositol	100
Sacarose	30.000

Os recipientes usados foram de dois tipos: a) recipiente de vidro transparente (com 10,5 cm de altura; 6,8 cm de diâmetro de fundo e boca com 6,3 cm de diâmetro contendo quatro garras) com capacidade de 268,0 mL, vedado com tampa plástica de rosca (Figura 1A), contendo 30,0 mL de meio de cultura; b) recipiente de polipropileno (plástico transparente), com 10,1 cm de diâmetro e 8,0 cm de altura, com capacidade de 396,0 mL, vedado com tampa também de polipropileno de encaixe (Figura 1B), contendo 60,0 mL de meio de cultura. Em ambos os tipos de recipientes, após a vedação, as tampas foram seladas com filme de PVC.



Fotos: Ana Cristina Portugal P. de Carvalho

Figura 1. Tipos de recipientes utilizados nas fases de multiplicação e de alongamento e enraizamento de mudas micropropagadas de bananeira cv. Williams. Recipiente de vidro transparente (com 10,5 cm de altura; 6,8 cm de diâmetro de fundo e boca com 6,3 cm de diâmetro contendo quatro garras) com capacidade de 268,0 mL, vedado com tampa plástica de rosca (A). Recipiente de polipropileno (plástico transparente), com 10,1 cm de diâmetro e 8,0 cm de altura, com capacidade de 396,0 mL, vedado com tampa também de polipropileno de encaixe (B). Barra de tamanho: 1,0 cm. Embrapa Agroindústria Tropical, 2009.

Três condições de cultivo foram avaliadas para a manutenção das culturas: a) sala de crescimento, com temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 12 horas de luz e intensidade luminosa de 30 μmol m⁻²s⁻¹, com refrigeração; b) sala de crescimento, com temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 horas de luz e intensidade luminosa de 30 μmol m⁻²s⁻¹, com refrigeração; c) sala convencional (ambiente com condições não controladas, com luz natural), com temperatura média de 28 ± 2 °C, fotoperíodo não determinado (local do experimento: Fortaleza, CE, aproximadamente 12 horas de luz) e intensidade luminosa média de 5 μmol m⁻²s⁻¹, sem refrigeração. Esta última sala foi escolhida para ser utilizada na aplicação

do tratamento controle, ou seja, sem condições controladas de temperatura, fotoperíodo e intensidade luminosa. Nessa sala, os recipientes com as culturas foram mantidos próximos à janela, de forma a receber luz natural ao longo do dia (Figura 2).

Foto: José Dionis Matos Araújo

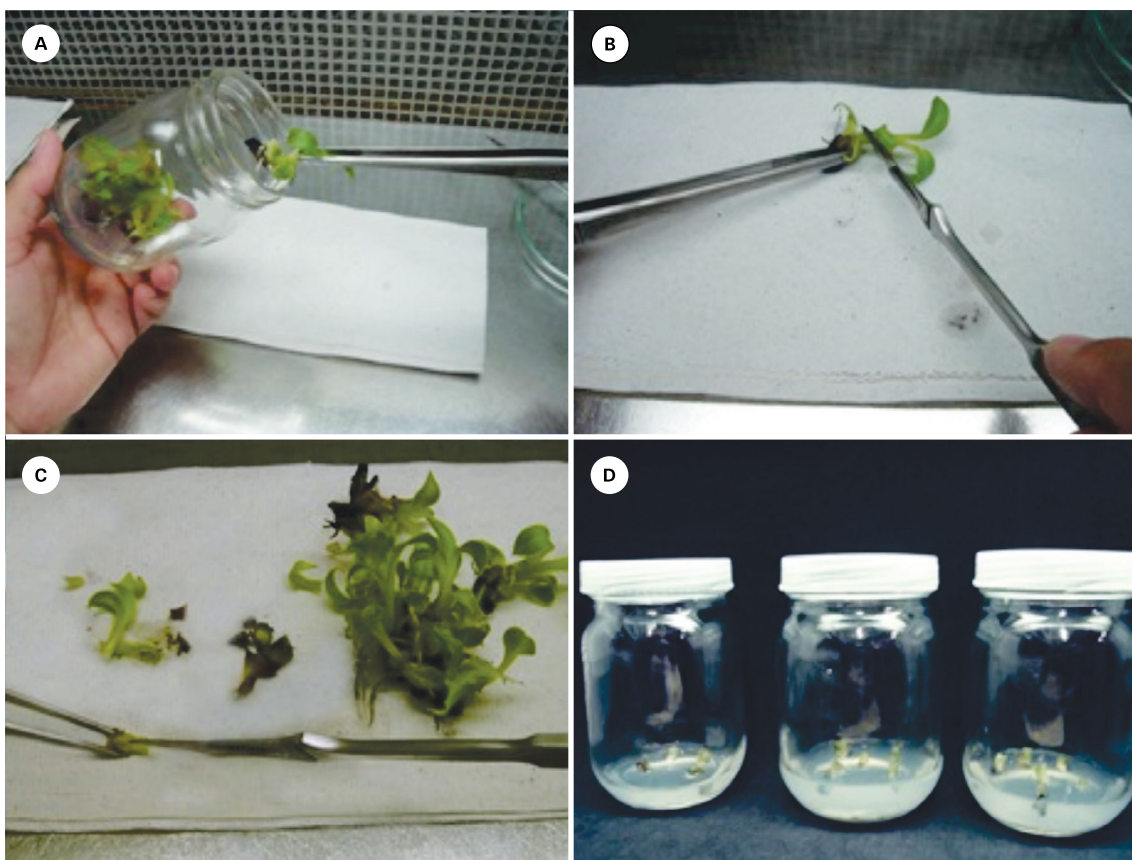


Figura 2. Sala sem controle de temperatura, fotoperíodo e intensidade luminosa (tratamento controle). Nessa sala, os recipientes, contendo as culturas, foram mantidos próximos à janela, de forma a receber luz natural ao longo do dia. Embrapa Agroindústria Tropical, 2009.

A produção de mudas micropropagadas de bananeira foi avaliada em duas etapas, sendo a primeira na fase de multiplicação (fase II) e a segunda na fase de alongamento e enraizamento (fase III) das brotações.

Fase de multiplicação (fase II)

Nessa fase, foram utilizadas brotações, com cerca de 1,0 cm de altura, oriundas de culturas estabelecidas no 5º subcultivo. Essas brotações foram individualizadas, suas folhas e raízes, quando presentes, eliminadas, e foi realizado um pequeno corte longitudinal (pique), sem dividi-las ao meio (Figura 3), visando à quebra da dominância apical. Os explantes foram subcultivados em dois tipos de recipientes – de vidro e de plástico, contendo respectivamente 30,0 mL e 60,0 mL de meio de cultura MS suplementado com 2,5 mg L⁻¹ (corresponde a 11,1 μmolar) de 6-benzilaminopurina (BAP) – e, posteriormente, acondicionados nas três salas de crescimento, de acordo com o tratamento, isto é, com as três condições de cultivo testadas.



Fotos: José Dionis Matos Araújo

Figura 3. Brotações de bananeira cv. Williams utilizadas como explantes para a condução do experimento de multiplicação (fase II). As brotações estabelecidas no 5º subcultivo foram retiradas dos frascos de cultivo (A), individualizadas (B), sendo suas folhas e raízes, quando presentes, eliminadas, e foi realizado um pequeno corte longitudinal (pique) sem dividi-las ao meio (C). Esses explantes foram colocados em recipientes de vidro (D) de acordo com o tratamento (4, 5, e 6 explantes por frasco). Embrapa Agroindústria Tropical, 2009.

Após 30 dias de cultivo *in vitro*, foi avaliada a taxa de multiplicação, isto é, o número de brotações obtidas por explante. Constatou-se significância somente para o fator número de explantes/recipiente de vidro. Como não houve significância para o fator condições de cultivo e para a interação condições de cultivo x número de explantes/recipiente de vidro, isso significa que a utilização tanto dos fotoperíodos de 12 horas e 16 horas, com controle de temperatura e intensidade luminosa, quanto a condição controle (sala convencional, com temperatura média de 28 ± 2 °C, fotoperíodo não determinado e intensidade luminosa média de $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sem refrigeração) levaram a uma mesma taxa de multiplicação na bananeira cv. Williams em recipientes de vidro.

Quando se utilizam 4 ou 5 explantes/recipiente de vidro, obtêm-se maiores médias na taxa de multiplicação quando comparado com a utilização de 6 explantes/recipiente de vidro. Provavelmente, o aumento no número de explantes por recipiente pode ocasionar competição das culturas por nutrientes do meio de cultivo, justificando as menores taxas de multiplicação obtidas com a utilização de 6 explantes por recipiente de vidro. Dessa forma, a produção de mudas de bananeira cv. Williams em recipientes de vidro pode ser feita utilizando-se 4 ou 5 explantes por recipiente (Tabela 3), sendo mais viável economicamente o uso de cinco explantes por frasco, tendo em vista que, ao final de cada subcultivo, será obtido um maior número de mudas.

Tabela 3. Médias das taxas de multiplicação de bananeira cv. Williams micropropagadas, no sexto subcultivo, em recipientes de vidro, submetidas à avaliação em diferentes condições de cultivo (regimes de luz) e diferentes números de explantes por recipiente, aos 30 dias de cultivo *in vitro* em meio de cultura MS adicionado de $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP. Embrapa Agroindústria Tropical, 2009.

Condição de cultivo (regime de luz)	Nº de explantes/recipiente de vidro			Médias
	4	5	6	
Controle	4,98	4,10	3,49	4,19
12 horas	4,33	4,98	3,74	4,35
16 horas	4,95	4,54	3,58	4,36
Médias ⁽¹⁾	4,75 a	4,54 a	3,60 b	

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Quando se utilizou o recipiente de plástico, constatou-se na análise de variância que houve significância para o fator número de explantes/recipiente e para a interação condição de cultivo x número de explantes/recipiente, não havendo significância para o fator condição de cultivo.

Realizando-se a combinação das três condições de cultivo com os três números de explantes/recipiente de plástico, observou-se que os maiores valores para taxa de multiplicação foram registrados no fotoperíodo de 12 horas com 8 explantes/recipiente e 10 explantes/recipiente e no fotoperíodo não determinado convencional de controle (Tabela 4). Tanto com os recipientes de plástico quanto com os de vidro, constatou-se que, aumentando o número de explantes/recipiente, as taxas de multiplicação diminuem, devido provavelmente à maior competição dos explantes por nutrientes do meio de cultura.

Tabela 4. Médias das taxas de multiplicação de bananeira cv. Williams micropropagadas, no sexto subcultivo, em recipientes de plástico na combinação de três condições de cultivo (regimes de luz) com três números de explantes por recipiente, aos 30 dias de cultivo *in vitro* em meio de cultura MS adicionado de $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP.

Nº de explante/recipiente	Condição de cultivo (regime de luz) ⁽¹⁾		
	Controle	12 horas	16 horas
8	3,00 ab A	3,63 a A	2,58 b A
10	3,44 a A	2,98 a A	2,88 a A
12	2,80 a A	2,02 a B	2,50 a A

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Sendo assim, para o sexto subcultivo da fase de multiplicação das brotações (fase II) de bananeira cv. Williams, recomenda-se manter as culturas em sala de crescimento com temperatura média de 28 ± 2 °C, sem a necessidade de fotoperíodo determinado e intensidade luminosa média de $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sem refrigeração. As brotações devem ser subcultivadas em recipientes de vidro contendo cinco explantes por recipiente. É importante ressaltar que os recipientes contendo as culturas devem receber luz natural ao longo do dia.

Esse procedimento representa economia de custos com energia elétrica, mão de obra e insumos

no processo, quando comparado com o sistema convencional. Na maioria dos trabalhos, no sistema convencional, a fase II da micropropagação é efetuada em sala de crescimento, com temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 horas de luz e intensidade luminosa de $30 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, com refrigeração (Tabela 1).

Segundo Standaert-de-Metsanaere (1991), em um laboratório de cultura de tecidos, 65% do gasto total com eletricidade se deve aos custos com iluminação das salas de crescimento, onerando significativamente o custo final da muda. Do ponto de vista econômico, a otimização de um sistema comercial de micropropagação requer diminuição dos gastos com energia elétrica, que, segundo Grattapaglia e Machado (1998), é um dos principais componentes do custo de uma muda micropropagada. Por isso, a utilização de processos que não utilizem salas de crescimento com iluminação específica (lâmpadas fluorescentes brancas-frias), por encarecerem o custo da produção, são alternativas que podem ser utilizadas na redução dos custos das mudas micropropagadas.

No experimento realizado, apesar de o recipiente de plástico facilitar trocas gasosas e seu volume interno ser maior em relação ao recipiente de vidro, a relação ar/explante torna-se menor devido principalmente ao número superior de explantes subcultivados no recipiente de plástico, modificando a composição dos gases e interferindo no crescimento e desenvolvimento dos explantes. Apesar de ter sido mantida a mesma relação quantidade de meio de cultura por número de explante para os dois tipos de recipientes, talvez a relação volume interno por número de explantes desenvolvidos no recipiente de plástico contribuiu para uma menor relação ar/explante, justificando seu baixo desempenho.

Comparando-se as Tabelas 3 e 4, observa-se que as médias das taxas de multiplicação em bananeira cv. Williams foram maiores nos recipientes de vidro do que nos recipientes de plástico. De acordo com Erig e Schuch (2005), o aumento das trocas gasosas no recipiente de cultivo reduz a concentração de etileno, gás que inibe a regeneração de novos brotos, influenciando no desenvolvimento das culturas *in vitro* (BIDDINGTON, 1992). Neste experimento, apesar de o recipiente de plástico possuir volume interno maior do que o de vidro e facilitar as trocas gasosas, possivelmente a

menor relação ar/explante acarretou uma maior concentração de etileno, resultando em menor taxa de multiplicação das brotações.

De acordo com Bandeira et al. (2007), o microambiente dentro dos recipientes de cultura parece ser um espaço homogêneo, mas na verdade é o responsável pela variabilidade no comportamento das culturas, uma vez que os fatores determinantes para a qualidade do microambiente são os tipos de recipiente, tipo de tampa e quantidade de meio presente. Buffa Filho et al. (2002) inferem sobre a forma de vedação empregada, que interfere nas trocas gasosas entre o microambiente dentro do recipiente e o ar atmosférico, ocasionando o aumento da concentração de gás carbônico (CO_2) e de etileno dentro dos recipientes se for utilizada vedação hermética. Grattapaglia e Machado (1998) mencionam que o tipo de recipiente afeta diretamente a composição da fase gasosa do recipiente e, conseqüentemente, o crescimento e desenvolvimento das culturas.

Fase de alongamento e enraizamento (fase III)

Na fase de alongamento e enraizamento, foram utilizados como explantes brotações com cerca de 2,0 cm de altura e três folhas expandidas, oriundas de culturas provenientes do sexto subcultivo (Figura 4). Essas brotações foram individualizadas, mantendo-se as folhas (que não devem ser eliminadas nem cortadas), mas retirando-se as raízes, quando presentes.



Foto: José Dionis Matos Araújo

Figura 4. Brotações de bananeira cv. Williams, com cerca de 2,0 cm de altura e três folhas expandidas, oriundas de culturas provenientes do sexto subcultivo, em meio de cultura MS adicionado de $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP, utilizadas como explantes para a implantação do experimento de alongamento e enraizamento (fase III). Barra de tamanho: 1,0 cm. Embrapa Agroindústria Tropical, 2009.

A retirada das raízes, além de facilitar o posicionamento das brotações no meio de cultura, estimula o desenvolvimento de novas raízes, na fase de alongamento e enraizamento. Em seguida, as brotações foram alongadas e enraizadas em recipientes de vidro e de plástico contendo meio de cultura MS suplementado com $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de ácido naftaleno acético (ANA) e posteriormente acondicionadas em salas de crescimento, de acordo com o tratamento.

Após 30 dias de cultivo *in vitro*, as mudas foram avaliadas quanto à altura (AP), número de folhas (NF), diâmetro do pseudocaule (DP), comprimento da maior raiz (CMR) e peso fresco da planta (PFP). Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

Na análise de variância referente ao experimento utilizando-se recipientes de vidro, observou-se significância para as variáveis AP, NF, DP e PFP,

sendo as diferenças somente para condição de cultivo (regime de luz) nas variáveis AP e DP, regime de luz e número de explantes/recipiente de vidro na variável NF e regime de luz e interação regime de luz x número de explantes/recipiente de vidro na variável PFP. Não foi verificada significância apenas para CMR.

A comparação das médias para as diferentes variáveis avaliadas encontra-se na Tabela 5. As maiores médias de altura da planta foram verificadas quando se utilizou o controle. Isso ocorreu devido ao estiolamento observado nas plantas, independentemente do número de explantes usado por frasco (Figura 5). Também houve um decréscimo na altura da planta e um maior número de folhas por explante de acordo com o aumento do fotoperíodo. Segundo Grattapaglia e Machado (1998), a luz influencia na regulação da morfogênese, atua como fonte de energia para a realização da fotossíntese e favorece o desenvolvimento de partes aéreas.

Tabela 5. Médias das variáveis, altura da planta (AP), número de folhas (NF), diâmetro do pseudocaule (DP) e comprimento da maior raiz (CMR), de mudas micropropagadas de bananeira cv. Williams cultivadas em recipientes de vidro submetidas à avaliação em diferentes números de explantes por recipiente e diferentes condições de cultivo (regimes de luz). Embrapa Agroindústria Tropical, 2009.

Condições de cultivo (regime de luz)	Nº de explantes/recipiente			Médias
	4	5	6	
Altura da planta – AP(cm)				
Controle	4,81	4,58	5,01	4,80 A
12 horas	2,47	2,46	2,58	2,50 B
16 horas	2,18	2,03	2,25	2,15 C
Médias	3,15	3,02	3,28	
Número de folhas – NF				
Controle	3,65	3,40	3,57	3,54 B
12 horas	5,67	4,64	5,02	5,11 A
16 horas	5,5	5,26	5,1	5,29 A
Médias	4,43 b	4,56 b	4,94 a	
Diâmetro do pseudocaule – DP (mm)				
Controle	2,75	2,74	2,85	2,78 C
12 horas	3,26	3,21	3,05	3,17 B
16 horas	3,68	3,28	3,51	3,49 A
Médias	3,23	3,08	3,13	
Comprimento da maior raiz – CMR (cm)				
Controle	6,43	7,45	7,25	7,05
12 horas	6,56	6,18	5,85	6,20
16 horas	6,74	5,95	7,05	6,58
Médias	6,58	6,53	6,71	

^a. A Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

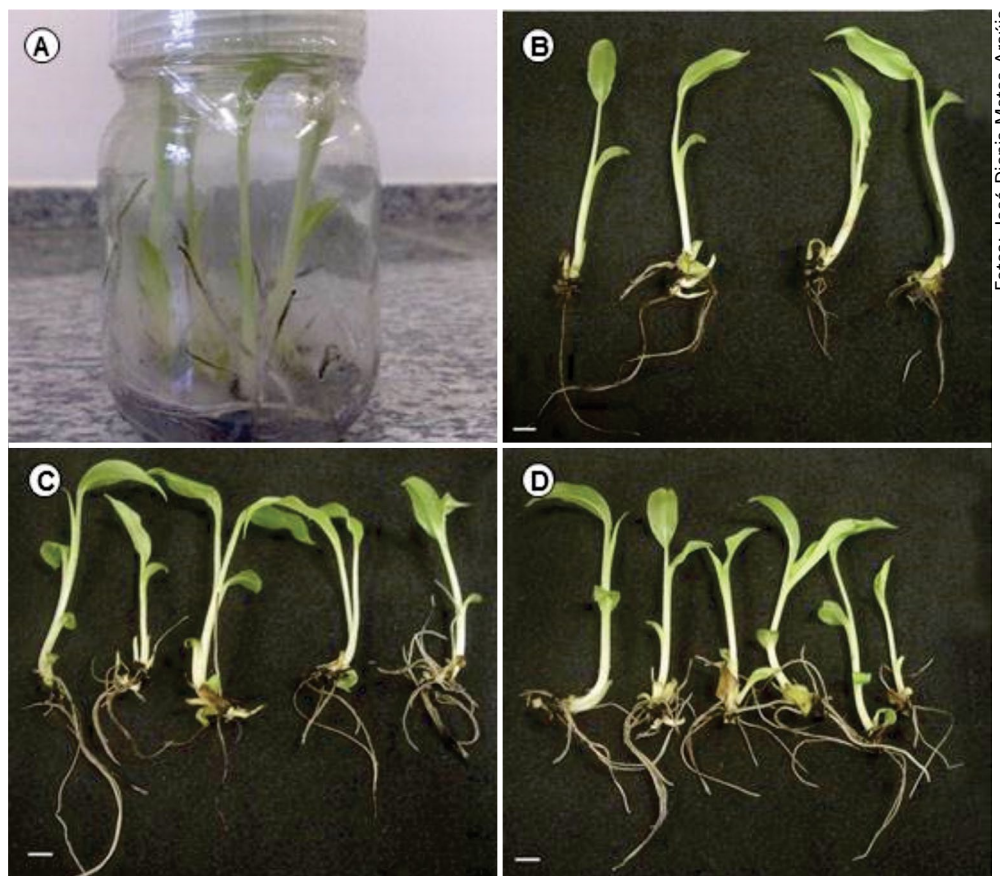


Figura 5. Mudanças de bananeira cv. Williams alongadas e enraizadas em frasco de vidro, na sala sem controle de temperatura, fotoperíodo e intensidade luminosa, tratamento controle (A). Essas mudanças apresentaram as maiores médias de altura da planta, devido ao estiolamento, independentemente do número de explantes por recipiente de vidro: 4 explantes (B), 5 explantes (C) e 6 explantes (D). Barra de tamanho: 1,0 cm. Embrapa Agroindústria Tropical, 2009.

Realizando-se a combinação das três condições de cultivo com os três números de explantes/recipiente de vidro, observou-se que os melhores resultados para o peso fresco por planta foram obtidos no fotoperíodo não determinado (controle) independentemente do número de explantes por frasco, no fotoperíodo de 16 horas com 4 e 6 explantes/recipiente e de 12 horas com 5 explantes/recipiente (Tabela 6). No entanto, a utilização

do fotoperíodo de 12 horas com 5 explantes por recipiente de vidro é o mais recomendável. Na sala de crescimento sem controle da temperatura e da luminosidade, as mudanças apresentaram estiolamento. Embora o desenvolvimento das culturas tenha sido semelhante quando mantidas no fotoperíodo de 16 horas, o fotoperíodo de 12 horas é o recomendado, pois representa maior economia de custos de energia elétrica no processo.

Tabela 6. Médias do peso fresco de mudanças micropropagadas de bananeira cv. Williams cultivadas em recipientes de vidro na combinação de três condições de cultivo (regimes de luz) com três números de explantes por recipiente, aos 30 dias de cultivo *in vitro*, no meio de alongamento e enraizamento. Embrapa Agroindústria Tropical, 2009.

N° de explante/recipiente	Condição de cultivo (regime de luz) ⁽¹⁾		
	Controle	12 horas	16 horas
4	1,02 b A	1,04 ab A	1,38 a A
5	1,03 a A	1,08 a A	0,93 a B
6	0,98 b A	0,87 b A	1,50 a A

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Na análise de variância referente ao experimento utilizando-se recipientes de plástico, observou-se significância para as seguintes variáveis: altura da planta (AP), número de folhas (NF), diâmetro do pseudocaule (DP), comprimento da maior raiz (CRM) e peso fresco por planta (PFP), sendo as diferenças encontradas somente para regime de luz nas variáveis AP, NF, CMR e PFP, regime de luz e número de explantes/recipiente de plástico na variável DP. Não se observou significância para a interação condições de cultivo (regime de luz) x número de explantes/recipiente de plástico em nenhuma das variáveis.

Observou-se que a utilização do controle resultou nas maiores médias para altura da planta (Tabela 7), o que

pode ser justificado pelo estiolamento das mudas nessas condições, ou seja, baixa intensidade luminosa e sem fotoperíodo controlado independentemente do número de explantes por frasco (Figura 6). Observou-se também que fotoperíodos de 12 e 16 horas resultaram nas maiores médias para o número de folhas por explante (Tabela 5). Ainda foi verificado um maior comprimento de raiz por planta quando da utilização do controle. A luz favorece o desenvolvimento de partes aéreas e o escuro da rizosfera. As culturas mantidas no fotoperíodo de 16 horas apresentaram maior peso fresco por planta provavelmente devido ao aumento no número de folhas e no diâmetro do pseudocaule com o maior tempo de exposição à luz e a maior intensidade luminosa, quando comparadas com o controle.

Tabela 7. Médias das variáveis altura da planta (AP), número de folhas (NF), diâmetro do pseudocaule (DP), comprimento da maior raiz (CRM) e peso fresco da planta (PFP) de mudas micropropagadas de bananeira cv. Williams cultivadas em recipientes de plástico submetidas à avaliação em diferentes números de explantes por recipiente e diferentes condições de cultivo (regimes de luz). Embrapa Agroindústria Tropical, 2009.

Condição de cultivo (regime de luz)	Nº de explantes/recipiente ⁽¹⁾			Médias
	8	10	12	
Altura da planta – AP (cm)				
Controle	5,35	4,86	5,48	5,23 A
12 horas	2,67	2,86	2,83	2,79 B
16 horas	2,81	2,8	2,92	2,84 B
Médias	3,61	3,51	3,75	
Número de folhas – NF				
Controle	4,43	4,92	4,63	4,66 B
12 horas	5,45	5,36	5,34	5,39 A
16 horas	5,29	5,38	4,85	5,18 A
Médias	5,06	5,22	4,94	
Diâmetro do pseudocaule – DP (mm)				
Controle	2,86	3,06	2,77	2,90 C
12 horas	3,24	3,43	3,33	3,34 B
16 horas	3,71	3,77	3,19	3,56 A
Médias	3,27 ab	3,42 a	3,10 b	
Comprimento da maior raiz – CRM (cm)				
Controle	8,70	9,32	9,32	9,12 A
12 horas	6,36	6,51	6,69	6,52 B
16 horas	8,05	6,89	6,69	7,21 B
Médias	7,70	7,58	7,57	
Peso fresco da planta – PFP (g)				
Controle	1,51	1,48	1,39	1,46 B
12 horas	1,20	1,38	1,33	1,30 B
16 horas	2,22	1,97	1,65	1,94 A
Médias	1,65	1,61	1,45	

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

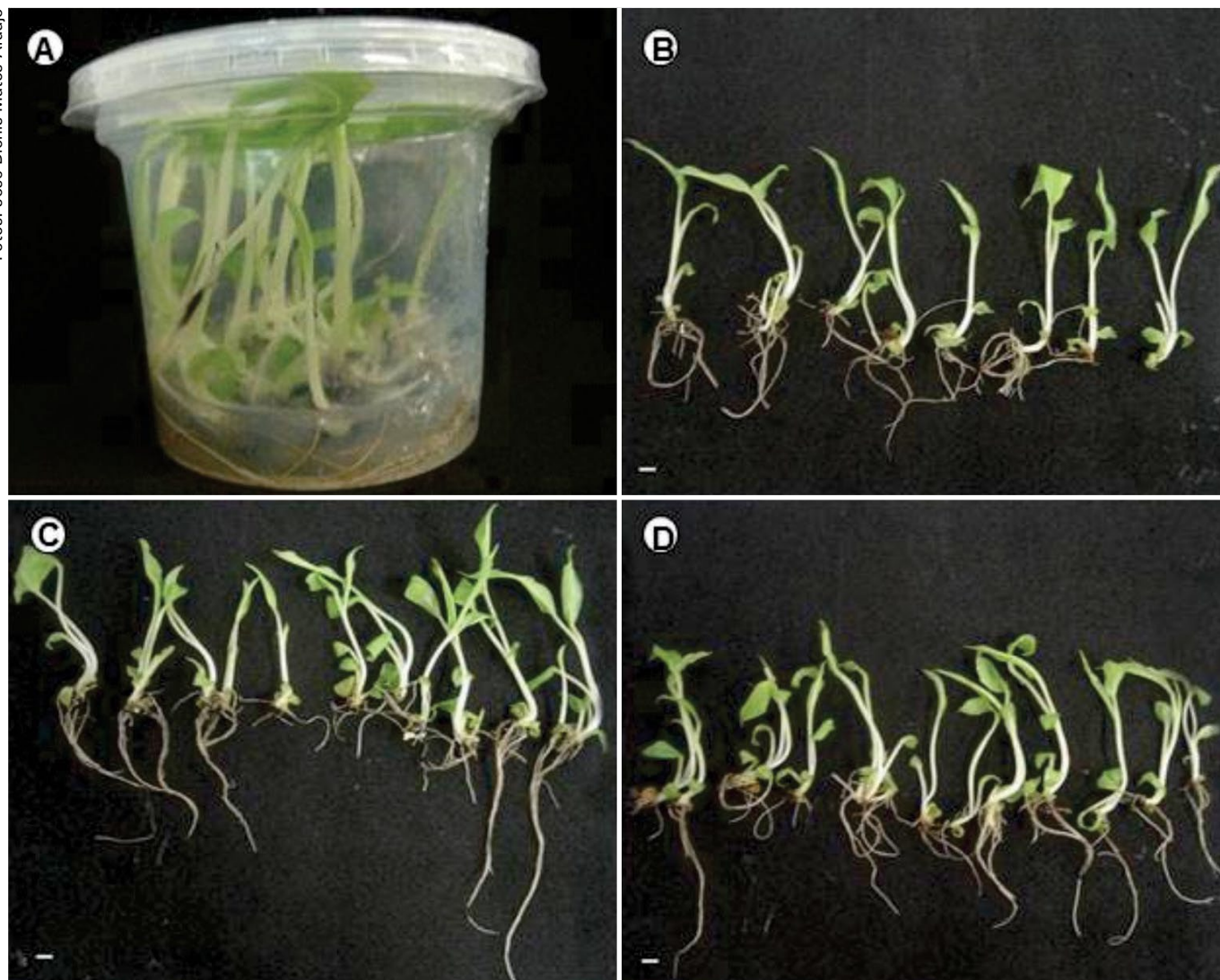


Figura 6. Mudanças de bananeira cv. Williams alongadas e enraizadas em recipiente de plástico, na sala sem controle de temperatura, fotoperíodo e intensidade luminosa, tratamento controle (A). Essas mudanças apresentaram as maiores médias de altura da planta, devido ao estiolamento, independentemente do número de explantes por frasco de plástico: 8 explantes (B); 10 explantes (C) e 12 explantes (D). Barra de tamanho: 1,0 cm. Embrapa Agroindústria Tropical, 2009.

De forma geral, não se dispõe de muitas informações na literatura sobre o efeito do fotoperíodo na micropropagação da bananeira. A intensidade luminosa ótima depende da espécie, do tipo de cultura e da morfogênese a ser controlada ou induzida, variando o período de iluminação de 12 a 16 horas por dia (HANDRO; FLOH, 1990).

Análise econômica das duas fases do experimento

Após a realização das duas fases – fase II (multiplicação dos brotos) e fase III (alongamento e enraizamento dos brotos) –, efetuou-se uma análise comparativa da viabilidade econômica entre o processo de micropropagação tradicional e os processos testados neste estudo, considerados

inovadores. O processo tradicional (utilização de frascos de vidro; sala de crescimento com fotoperíodo de 12 horas de luz e refrigeração por ar-condicionado) foi utilizado no sexto subcultivo tanto da fase de multiplicação (fase II) quanto na fase de alongamento e enraizamento (fase III) das brotações. Os processos inovadores, denominados INOVAS, do 1 ao 5 foram utilizados na fase de multiplicação (fase II), enquanto os INOVAS do 6 ao 10, na fase de alongamento e enraizamento (fase III) das mudanças.

A análise comparativa entre o desempenho econômico dos processos tradicional e dos processos inovadores isolados e combinados pode ser verificada na Tabela 8.

Tabela 8. Desempenho econômico dos processos convencionais e inovadores na produção de mudas micropropagadas de bananeira cv. Williams, para o sexto subcultivo na fase de multiplicação (fase II) e na fase de alongamento e enraizamento (fase III) das brotações. Embrapa Agroindústria Tropical, 2009.

Processo ⁽¹⁾	Custo de produção		Produção (Und.)	Renda líquida		Taxa de retorno	
	(R\$)	(%)		(R\$)	(%)	(R\$)	(%)
Convencional ⁽²⁾	11.590,51	100,00	25.855,00	14.264,49	100,00	2,23	100,00
INOVA 1	11.609,23	100,16	25.855,00	14.245,77	99,87	2,23	99,84
INOVA 2	10.970,89	94,65	25.855,00	14.884,11	104,34	2,36	105,65
INOVA 3	9.788,40	84,45	17.236,00	7.447,60	52,21	1,76	78,94
INOVA 4	9.799,62	84,55	17.236,00	7.436,38	52,13	1,76	78,85
INOVA 5	9.191,23	79,30	17.236,00	8.044,77	56,40	1,88	84,07
INOVA 6	11.669,44	100,68	25.855,00	14.185,56	99,45	2,22	99,32
INOVA 7	10.791,47	93,11	25.855,00	15.063,53	105,60	2,40	107,40
INOVA 8	10.567,20	91,17	25.855,00	15.287,80	107,17	2,45	109,68
INOVA 9	10.623,32	91,66	25.855,00	15.231,68	106,78	2,43	109,10
INOVA 10	9.835,21	84,86	25.855,00	16.019,79	112,31	2,63	117,85
INOVA 2+8	9.947,58	85,83	25.855,00	15.907,42	111,52	2,60	116,52

⁽¹⁾Convencional: utilização de frascos de vidro; sala de crescimento com fotoperíodo de 12 horas de luz e refrigeração por ar-condicionado). INOVA: processos inovadores. INOVA 1: utilização de recipientes de vidro, sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas de luz e refrigeração por ar-condicionado. INOVA 2: utilização de recipientes de vidro, sala de crescimento com fotoperíodo não determinado e sem refrigeração, convencionado de controle. INOVA 3: utilização de recipientes de plástico, sala de crescimento com fotoperíodo de 12 horas de luz e refrigeração por ar-condicionado. INOVA 4: utilização de recipientes de plástico, sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas de luz e refrigeração por ar-condicionado. INOVA 5: utilização de recipientes de plástico, sala de crescimento com fotoperíodo não determinado e sem refrigeração, convencionado de controle. INOVA 6: utilização de recipientes de vidro, sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas de luz e refrigeração por ar-condicionado. INOVA 7: utilização de recipientes de vidro, sala de crescimento com fotoperíodo não determinado e sem refrigeração, convencionado de controle. INOVA 8: utilização de recipientes de plástico, sala de crescimento com fotoperíodo de 12 horas de luz e refrigeração por ar-condicionado. INOVA 9: utilização de recipientes de plástico, sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas de luz e refrigeração. INOVA 10: utilização de recipientes de plástico, sala de crescimento com fotoperíodo não determinado e sem refrigeração, convencionado de controle.

⁽²⁾Considerou-se o preço de R\$ 1,00 a muda com raiz nua.

O processo combinado que apresentou maior rentabilidade, com uma taxa de retorno igual a R\$ 2,60, foi o INOVA 2 + 8. O ganho de rentabilidade de 16,52% desses processos em relação ao convencional foi decorrente, na fase II, das melhores taxas de multiplicação obtidas com a utilização dos recipientes de vidro e cultivo em sala convencional sem a necessidade da utilização de iluminação artificial e de refrigeração por ar-condicionado para o controle da temperatura, diminuindo os custos com energia elétrica. Na fase III, a utilização de recipientes de plástico e o fotoperíodo de 12 horas de luz proporcionaram um incremento no processamento diário de explantes, reduzindo significativamente os gastos com mão de obra e insumos.

Apesar da inovação 10 apresentar o maior resultado, 17,85%, a sua utilização não é recomendada. As mudas obtidas nesse sistema apresentam os maiores valores para a altura da planta em função do estiolamento exibido. Essa característica, além de dificultar o transplante das mudas para a fase de aclimatização, pode também afetar a taxa de sobrevivência.

Conclusões

Recomenda-se, durante o sexto subcultivo da fase de multiplicação na produção de mudas micropropagadas de bananeira cv. Williams, a utilização de 5 explantes por recipiente de vidro.

As culturas devem ser mantidas em sala de crescimento com temperatura média de 28 ± 2 °C, fotoperíodo não determinado e intensidade luminosa média de $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sem refrigeração. Os recipientes contendo as culturas devem receber luz natural ao longo do dia (em torno de 12 horas de luz).

Sugere-se, durante a fase de alongamento e enraizamento de produção de mudas micropropagadas de bananeira cv. Williams, a utilização de 10 explantes por recipiente de plástico. As culturas devem ser mantidas em sala de crescimento, com temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 12 horas de luz e intensidade luminosa de $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com refrigeração.

O melhor resultado econômico foi obtido com a combinação do INOVA 2 com o INOVA 8, constatando-se a viabilidade de se alcançar um incremento na rentabilidade de até 16% por processos alternativos de produção de mudas micropropagadas de bananeira cv. Williams.

Agradecimentos

Agradecemos ao Instituto Euvaldo Lodi, pela concessão da bolsa para José Dionis Matos Araújo, e à BioClone Produção de Mudanças S.A., por lhe conceder estágio, durante o qual o bolsista desenvolveu seu trabalho de monografia (ARAÚJO, 2009).

Referências

- AHLOOWALIA, B. S.; SAVANGIKAR, V. A. Low cost options for energy and labour. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, 2002, Vienna. **Low cost options for tissue culture technology in developing countries**. Viena: FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, 2004. p. 41- 45.
- AL-AMIN, M. D.; KARIM, M. R.; AMIN, M. R.; RAHMAN, S.; MAMUN, A. N. M. In vitro micropropagation of banana (*Musa* spp.). **Bangladesh Journal of Agricultural Research**, Bangladesh v. 34, n. 4, p. 645-659, 2009.
- ALI, A.; SAJID, A.; NAVEED, N. H.; MAJID, A.; SALEEM, A.; KHAN, U. A.; JAFERY, F. I.; NAZ, S. Initiation, proliferation and development of micro-propagation system for mass scale production of banana through meristem culture. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 10, n. 70, p. 15731-15738, 2011.
- ARAÚJO, J. D. M. **Técnicas alternativas para redução de custos na produção de mudas micropropagadas de bananeira cv. Williams**. 2009. 60 f. Monografia – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- ARIAS, O. Commercial micropropagation of banana. In: WORKSHOP ON BIOTECHNOLOGY APPLICATIONS FOR BANANA AND PLANTAIN IMPROVEMENT, San José. **Proceedings...** Montpellier: INIBAP, 1993. p. 139-142.
- ASMAR, S. A.; PASQUAL, M.; ARAUJO, M. A. G.; SILVA, R. A. L.; RODRIGUES, F. A. PIO, L. A. S. Características morfofisiológicas de bananeiras 'Grande Naine' aclimatizadas em resposta a utilização de silício *in vitro*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 73-82, 2013.
- BANDEIRA, J. M.; LIMA, C. S. M.; RUBIN, S.; RIBEIRO, M. V.; FALQUETO, A. R.; PETERS, J. A.; BRAGA, E. J. B. Diferentes tipos de vedações dos frascos e concentrações de sacarose na micropropagação de *Thymus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 472-474, 2007.
- BATESON J. M.; GROUT B. W. W.; LANE, S. The influence of container dimensions on the multiplication rate of regeneration plant cell cultures. In: DUCATÉ, G.; JACOB, M.; SIMEON (Ed.). **Plant micropropagation in horticultural industries: preparation, hardening and acclimatization: Symposium: Papers**. [S.l.]: Belgian Plant Tissue Culture Group, 1987. p. 275-277.
- BERG L. A.; BUSTAMANTE M. Heat treatment and meristem culture for the production of virus-free bananas. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 64, n. 3, p. 320-322, 1974.
- BIDDINGTON, N. L. The influence of ethylene in plant tissue culture. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v.11, p.173-187, 1992.
- BUAH, J. N.; DANSO, E.; TAAH, K. J.; ABOLE, E. A.; BEDIAGO, E. A.; ASIEDU, J.; BAIDOO, R. The effects of different concentrations of cytokinins on the in vitro multiplication of plantain (*Musa* sp.). **Biotechnology**, Pakistan, v.9, n. 3, p. 343, 2010.
- BUFFA FILHO, W.; PEREIRA A. M. S.; FRANÇA, S. C.; FURLAN, M. Indução de metabólitos bioativos em culturas de células de *Maytenus ilicifolia*. **Eclética Química**, Marília, v. 27, n. especial, p. 403-416, 2002.
- CAMOLESI, M. R.; MARTINS, A. N.; SOUZA, L. D.; SACONI, C. G. Enraizamento in vitro de mudas micropropagadas de bananeira (*Musa* sp.) em diferentes meios de cultivo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 6, p. 1446-1451, 2010a.
- CAMOLESI, M. R.; FARIA, R. T.; NEVES, C. S. V. J.; MARTINS, A. N. Volume do frasco e consistência do meio de cultura na multiplicação *in vitro* da bananeira 'Maçã'. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 2, p. 255-260, 2010b.
- CARVALHO, A. C. P. P. de; RODRIGUES, A. A. de J.; SANTOS, E. de O. **Panorama da produção de mudas micropropagadas no Brasil**. Fortaleza : Embrapa Agroindústria Tropical, 2012a. 42 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 157).
- CARVALHO, A. C. P. P. de; RODRIGUES, A. A. de J.; SANTOS, E. de O. **Produção de mudas micropropagadas de bananeira**. Fortaleza : Embrapa Agroindústria Tropical, 2012b. 14 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Circular técnica37).

- CHAVAN-PATIL, V. B.; AREKAR, C. D.; GAIKWAD, D. K. Field performance of *in vitro* propagated banana plants from 8th and 15th subculture. **International Journal of Advanced Biotechnology and Research**, India, v. 1, n. 2, p. 96-103, 2010.
- COSTA, F. H. da S.; PASQUAL, M.; SANTOS, A. M. dos; CASTRO, R. M. de; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Modificações na anatomia foliar de bananeiras durante o processo de micropropagação. **Interciencia**, Caracas, v. 33, n. 9, p. 663-667, 2008a.
- COSTA, F. H. da S.; PASQUAL, M.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; RODRIGUES, F. A.; MIYATA, L. Y. Relação entre o tempo de enraizamento *in vitro* e o crescimento de plantas de bananeira na aclimatização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 1, p. 31-37, 2008b.
- DOOLEY, J. H. Influence of lighting spectra on plant tissue culture. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF THE AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERS, 1991, Chicago. **Proceedings...** Chicago: [s.n.], 1991. Não paginado.
- DREW, R. A.; SMITH, M. K. Field evaluation of tissue-cultured bananas in South-Eastern Queensland. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v. 30, n. 4, p. 569-574, 1990.
- ERIG, A. C.; SCHUCH, M. N. Micropropagação fotoautotrófica e uso da luz natural. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 961-965, 2005.
- FAOSTAT. **The Statistics Division of the FAO. 2012**. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/index.html#DOWNLOAD>>. Acesso em: 23 set. 2013.
- GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: The technology**. 2 ed. Edington: Exergetics, 1993. 574 p.
- GITONGA, N. M.; OMBORI, O.; MURITHI, K. S. D.; NGUGI, M. Low technology tissue culture materials for initiation and multiplication of banana plants. **African Crop Science Journal**, Kampala, v. 18, n. 4, p. 243-251, 2010.
- GOVINDARAJU, S.; SARAVANAN, J.; JAYANTHI, B.; NANCY, D.; INDRA, A. P. *In vitro* propagation of Banana (*Musa* sp. - Rasthali variety) from sword suckers for its commercial production. **Research in Plant Biology**, India, v. 2, n. 5, p. 1-6, 2012.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI; Embrapa-CNPq, 1998. v. 1, p. 183-260.
- HANDRO, W.; FLOH, E. I. S. Aspectos básicos do controle da morfogênese *in vitro*. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília, DF: ABCPT; Embrapa-CNPq, 1990. p. 203-212.
- JAFARI, N.; OTHMAN, R. Y.; KHALID, N. Effect of benzylaminopurine (BAP) pulsing on *in vitro* shoot multiplication of *Musa acuminata* (banana) cv. Berangan. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 13, p. 2446-2450, 2011.
- KAÇAR, Y. A.; BIÇEN, B.; VAROL, I.; MENDI, Y. Y.; SERÇE, S.; ÇETINER, S. Gelling agents and culture vessels affect *in vitro* multiplication of banana plantlets. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 1, p. 416-424, 2010.
- KANCHANAPOOM, K.; PROMSORN, N. Micropropagation and *in vitro* germplasm conservation of endangered *Musa balbisiana* 'Kluai Hin' (BBB group). **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 24, p. 6464-6469, 2012.
- LÉDO, A. S.; OLIVEIRA, L. F. M.; MACHADO, C. A.; FREIRE, K. C. S. **Aclimação de mudas de bananeira 'Prata-anã' regeneradas em diferentes condições de cultivo in vitro**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2008. 19 (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 37).
- LEMO, E. E. P.; FERREIRA, M. S.; ALENCAR, L. M. C.; OLIVEIRA, J. G. L.; MAGALHÃES, V. S. Micropropagação de clones de banana cv. Terra em biorreator de imersão temporária. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 482-487, 2001.
- MA, S. S.; SHIH, C. R. *In vitro* formation of adventitious buds in banana shoot apex following decapitation. **Journal of Chinese Society Horticultural Science**, v. 18, p. 135-142, 1972.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- NOMURA, E. S. Plantio adensado chega aos bananeiros. **AGRIBUS 2013**, São Paulo, p. 181-192, 2013.
- OLIVEIRA, H. S. **Comportamento de cultivares de bananeira (*Musa* spp.) resistentes a doenças no processo de micropropagação**. 2010. 79 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Manaus.
- OLIVEIRA, J. P.; COSTA, F. H. S.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Micropropagación y estimativa de producción de mudas de bananos para la Amazonia Occidental. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 43, n. 10, p. 1429-1432, 2008.
- OLIVEIRA, J. P. **Produção de mudas in vitro e ocorrência de microrganismos endofíticos em bananeiras da Amazônia Sul-Occidental**. 2009. 122 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Produção Vegetal) – Universidade Federal do Acre, Rio Branco.
- OLIVEIRA, H. S.; LEMOS, O. F.; MIRANDA, V. S.; MOURA, H. C. P.; CAMPELO, M. F.; SANTOS, L. R. R. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de brotos no processo de micropropagação de cultivares de bananeira (*Musa* spp.). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 41, n. 3, p. 369-376, 2011.
- ORELLANA, P.; PEREZ PONCE, J.; AGRAMONTE, D.; GOMEZ, R.; JIMENEZ, E.; MARTINEZ, S.; ALMAGUER, E.; GOMEZ, P. La micropropagación del plátano a escala comercial en Cuba. **ACEVIV Boletín Científico**, v. 3, n. 3, p. 29-38, 1991.
- PEREIRA, G. A. **Protocolo para micropropagação de bananeira 'Thap Maeo'**. 2012. 121f. Tese. (Doutorado em Sistemas de Produção). UNESP, Ilha Solteira.

- PEREIRA, L. V.; SILVA, C. R. R.; ALVARENGA, A. A. Influência do tipo de muda no comportamento vegetativo e produtivo da bananeira cv. Prata-anã. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 1, p. 164-167, 2001.
- PRAKASH, S.; HOQUE, M. I.; BRINKS, T. Culture media and containers. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. 2002, Viena. **Low cost options for tissue culture technology in developing countries: proceedings**. Viena: FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, 2004. p. 29-40.
- QUYNH, N.T.; UYEN, N.V. **Adapted propagation techniques for commercial crops of the tropics**. Stockholm: International Foundation for Science, 1993. 244 p.
- RESMI, L.; NAIR, A. S. Differential effect of cytokinins in the micropropagation of diploid and triploid *Musa* cultivars. **International Journal of Integrative Biology**, Singapore, v. 11, n. 1, p. 35-38, 2011.
- RIBEIRO, J. M.; MELO, N. F.; COELHO, A. K. N. S.; PINTO, M. S. T. Efeito do melado de cana-de-açúcar no desenvolvimento in vitro de bananeira (*Musa* spp.) cv. Maçã. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n.3, p. 293-298, 2012.
- ROCHA, H. S. **Luz e sacarose na micropropagação da bananeira "Prata-Anã": alterações morfoanômicas**. 2005. 98 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- ROCHA, H. S. Biofábricas: estrutura física e organização. In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. (Ed.). **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2009. p. 212-152.
- ROELS, S.; ESCALONA, M.; CEJAS, I.; NOCEDA, C.; RODRIGUEZ, R.; CANAL, M. J.; SANDOVAL, J.; DEBERGH, P. Optimization of plantain (*Musa* AAB) micropropagation by temporary immersion system. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 82, n. 1, p. 57-66, 2005.
- ROY, O. S.; BANTAWA, P.; GHOSH, S. K.; SILVA, J. A. T.; DEBGHOSH, P.; MONDAL, T. K. Micropropagation and field performance of 'Malbhog' (*Musa paradisiaca*, AAB group): a popular banana cultivar with high keeping quality of North East India. **Tree and Forestry Science and Biotechnology**, Japan, v. 4, n. 1, p. 52-58, 2010.
- SADIK, K.; ARINAITWE, G.; SSEBULIBA, J. M.; GIBSON, P.; LUGOLOBI, C.; MUKASA, S. B. Proliferation and shoot recovery among the East African Highland banana. **African Crop Science Journal**, Uganda, v. 20, n. 1, p. 67-76, 2012.
- SANADA, M. Micropropagation of semitropical crop and its application to cultivation in Okinawa. In: THIQUYNH, N.; UYEN, N.V. (Ed.). **Adapted propagation techniques for commercial crops of the tropics**. Stockholm: [s.n.], 1993. p. 101-105.
- SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, A. S.; SOUZA, F. V. D.; JUGHANS, T. G.; LINO, L. S. M.; SOARES, T. L.; SOUZA, E. H. Micropropagação da bananeira. In: JUGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. (Ed.). **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2009. p. 237-255.
- SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; COSTA, F. H. da S.; OLIVEIRA, J. P. de. Micropropagação de bananeira visando à produção massal de mudas de elevado padrão genético e fitossanitário. In: GONÇALVES, R. C.; OLIVEIRA, L. C. de (Org.). **Embrapa: ciência e tecnologia para o desenvolvimento sustentável do sudoeste da Amazônia**. Rio Branco: Embrapa Acre, 2009, v. 1, p. 253-290.
- SHIRANI, S.; SARIAH, M.; ZAKARIA, W.; MAZIAH, M. Scalp induction rate responses to cytokinins on proliferating shoot-tips of banana cultivars (*Musa* spp.). **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, v. 5, n. 2, p. 128-134, 2010.
- SILVA, S. de O. Cultivares de banana para exportação. In: CORDEIRO, Z. J. M. (Org.). **Banana: aspectos técnicos**. Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. p. 30-38. (Frutas do Brasil, 1).
- SINGH, H. P.; UMA, S.; SELVARAJAN, R.; KARIHALOO, J. L. **Micropropagation for production of quality banana planting material in Asia-Pacific**. Índia: APCoAB, APARI, 2011. 94 p.
- SIPEN, P.; SAVEY, M. R. Effects of n6-benzylaminopurine and indole acetic acid on in vitro shoot multiplication, nodule-like meristem proliferation and plant regeneration of malaysian bananas (*Musa* spp.). **Tropical Life Sciences Research**, Malaysia, v. 23, n. 2, p. 67-80, 2012.
- SOUZA, D. S.; SIQUEIRA, D. L.; CECON, P. R.; SANTOS, D. Micropropagação das bananeiras 'Prata-Anã' e 'FHIA 01' a partir de explantes de plantas tratadas com paclobutrazol. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, p. 561-570, 2010.
- STANDAERT-DE-METSANAERE, R.E. Economic considerations. In: DEBERGH, P.C.; ZIMMERMAN, R.H. **Micropropagation technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991, p. 131-140.
- VORA, N. C.; JASRAI, Y. T. Microwave oven based sterilization of media for micropropagation of banana. **CIBtech Journal of Biotechnology**, Índia, v. 1, n. 2/3, p. 18-21, 2012a.
- VORA, N. C.; JASRAI, Y. T. Natural and low cost substitutes of synthetic pgr for micropropagation of banana. **CIBTech Journal of Biotechnology**, Índia, v. 2, n. 1, p. 9-13, 2012b.
- WU, Y.; YI, G.; YANG, H.; ZHOU, B.; ZENG, J. Basal medium with modified nitrogen source and other factors influence the rooting of banana. **HortScience**, Alexandria, v. 40, n. 2, p. 428-430, 2005.
- ZERDA, A. A. Successes and prospects in biotechnology in Colômbia: the case of bananas and flowers. **Revista Nacional de Agricultura**, Bogotá, n. 897, p. 89-94, 1991.

Patrocínio:



Apoio:

**Circular Técnica, 45**

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Agroindústria Tropical

Endereço: Rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Pici

Fone: (0xx85) 3391-7100

Fax: (0xx85) 3391-7109 / 3391-7195

E-mail: www.embrapa.br/fale-conosco

1ª edição (2014): on-line

Comitê de Publicações

Presidente: Marlon Vagner Valentim Martins

Secretário-Executivo: Marcos Antonio Nakayama

Membros: José de Arimatéia Duarte de Freitas, Celli Rodrigues Muniz, Renato Manzini Bonfim, Rita de Cássia Costa Cid, Rubens Sonsol Gondim e Fábio Rodrigues de Miranda.

Expediente

Revisão de texto: Marcos Antonio Nakayama

Editoração eletrônica: Arilo Nobre de Oliveira

Normalização bibliográfica: Rita de Cassia Costa Cid