

Estabelecimento de protocolo para multiplicação *in vitro* de Bastão-do-imperador (*Etilingera elatior*) Jack RM Sm.

Larissa Abgariani Colombo*, Adriane Marinho de Assis, Ricardo Tadeu de Faria e Sérgio Ruffo Roberto

Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Cx. Postal 6001, 86051-990, Londrina, Paraná, Brasil.

*Autor para correspondência. E-mail: labgariani@ig.com.br

RESUMO. O objetivo deste trabalho foi estabelecer um protocolo para a multiplicação *in vitro* de Bastão-do-imperador (*Etilingera elatior*). Brotos axilares foram inoculados em meio MS contendo as seguintes concentrações de reguladores de crescimento durante a fase de isolamento: testemunha; BAP 2,25 mg L⁻¹; BAP 2,25 mg L⁻¹ + ANA 0,93 mg L⁻¹; BAP 2,25 mg L⁻¹ + AIA 0,87 mg L⁻¹; BAP 4,95 mg L⁻¹; BAP 4,95 mg L⁻¹ + ANA 0,93 mg L⁻¹; BAP 4,95 mg L⁻¹ + AIA 0,87 mg L⁻¹. As brotações provenientes desta fase foram subcultivadas em um novo meio de cultura MS: testemunha; BAP 2,25 mg L⁻¹; BAP 3,37 mg L⁻¹; BAP 4,50 mg L⁻¹; BAP 2,25 mg L⁻¹ + ANA 1,12 mg L⁻¹; BAP 3,37 mg L⁻¹ + ANA 2,25 mg L⁻¹; BAP 4,50 mg L⁻¹ + ANA 3,37 mg L⁻¹ e avaliou-se a taxa de multiplicação dos brotos por repetição. Durante a fase de isolamento, o melhor tratamento foi BAP 4,95 mg L⁻¹ + AIA 0,87 mg L⁻¹. Durante a fase de multiplicação, ocorreram em média três a quatro brotações por repetição, independentemente das concentrações e combinações de reguladores de crescimento utilizadas. As plântulas enraizaram e formaram touceiras no meio MS sem reguladores de crescimento, resultando em oito a dez plântulas por touceira.

Palavras-chave: Zingiberaceae, micropropagação, reguladores de crescimento.

ABSTRACT. Establishing a protocol for *in vitro* multiplication of philippine wax flower (*Etilingera elatior*) Jack RM Sm. The objective of the present paper was to establish a protocol for *in vitro* multiplication of the Philippine wax flower. Axillary shoots were inoculated in MS medium, holding the following concentrations of plant growth regulators during the isolation stage: without plant growth regulator; benzylaminopurine(BAP) 2.25 mg L⁻¹; BAP 2.25 mg L⁻¹ + naphthaleneacetic acid (NAA) 0.93 mg L⁻¹; BAP 2.25 mg L⁻¹ + indoleacetic acid (IAA) 0.87 mg L⁻¹; BAP 4.95 mg L⁻¹; BAP 4.95 mg L⁻¹ + NAA 0.93 mg L⁻¹; BAP 4.95 mg L⁻¹ + IAA 0.87 mg L⁻¹ and shootings from this stage were cultivated in a new MS medium following different combinations of plant growth regulators: without plant growth regulator; BAP 2.25 mg L⁻¹; BAP 3.37 mg L⁻¹; BAP 4.50 mg L⁻¹; BAP 2.25 mg L⁻¹ + NAA 1.12 mg L⁻¹; BAP 3.37 mg L⁻¹ + NAA 2.25 mg L⁻¹; BAP 4.50 mg L⁻¹ + NAA 3.37 mg L⁻¹ and shooting multiplication rate per replicate was evaluated. The best treatment, during the isolation stage, was BAP 4.95 mg L⁻¹ + IAA 0.87 mg L⁻¹. During the multiplication stage, there were three to four shootings per replicate, regardless of the concentrations and combinations of plant growth regulators used. The seedlings rooted, forming clusters on MS medium without plants growth regulators, resulting in eight to ten seedlings per cluster.

Key words: Zingiberaceae, micropropagation, plant growth regulators.

Introdução

As flores tropicais produzidas no Brasil são consideradas como de grande potencial estratégico de crescimento no mercado nacional e no internacional (FARIA, 2005; JUNQUEIRA; PEETZ, 2002; LOGES et al., 2005), sendo fundamental o emprego de técnicas adequadas para a propagação dessas plantas em larga escala.

Etilingera elatior (bastão-do-imperador), pertencente à família Zingiberaceae e originário da Indonésia, é uma planta tropical, herbácea,

rizomatoso, possuindo grandes inflorescências cerosas nas colorações rosa e vermelha, bastante utilizadas em projetos paisagísticos e como flor de corte na composição de arranjos florais (LORENZI; SOUZA, 2001).

A propagação *in vitro* ou micropropagação tem sido utilizada no Brasil há pouco mais de 25 anos, visando à rápida multiplicação e produção de plantas, em quantidade e qualidade superiores àquelas obtidas pelos métodos convencionais, e, conseqüentemente, com custos de produção

reduzidos (MELLO et al., 2000; STANCATO et al., 2001).

Outra vantagem do cultivo *in vitro* é a compatibilização de demandas específicas do mercado interno e do externo com atributos importantes como época de floração, coloração, tamanho e forma das flores, número de flores por planta, tamanho e vigor das plantas (KERBAUY, 1997), além da possibilidade de se amenizar problemas de dormência de rizomas no inverno, estresses ambientais, transmissão de doenças e ataque de pragas comuns em sistemas de propagação vegetativa, proporcionando a garantia da qualidade e da homogeneidade do produto final (SEGEREN, 1995; STANCATO et al., 2001), em larga escala, em curto período e espaços reduzidos (BRAGA; SÁ, 2001; OLIVEIRA; SILVA, 1997). Um número expressivo de espécies vegetais tem sido micropropagado, podendo ser citadas: bananeiras (*Musa* spp.) (NOMURA et al., 2008); orquídeas, como *Cattleya loddigesii* e *Laelia lundii* (COLOMBO et al., 2004) e rainha-do-abismo (*Sinningia leucotricha*) (UNEMOTO et al., 2006).

No cultivo *in vitro*, diversos protocolos com formulações de meios básicos e diferentes concentrações e/ou combinações de reguladores de crescimento têm sido utilizados nos meios de cultura, visando adequá-los às necessidades de cada espécie vegetal, estimulando respostas como crescimento, alongamento, enraizamento e multiplicação da parte aérea (ALMEIDA et al., 2002; BARBOZA et al., 2004; BRAGA et al., 2001; CID, 2001; GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1990; PAIVA et al., 2004; SILVA et al., 2008). Nestes protocolos, a adição de reguladores de crescimento supre as possíveis deficiências dos teores endógenos de hormônios nos explantes isolados da planta matriz. Além disso, a concentração e o tipo de regulador de crescimento vão depender do tecido utilizado, como explante, e da espécie vegetal (TAGLIACCOZZO, 1998).

Alguns estudos foram descritos, utilizando-se, na propagação *in vitro* de plantas, diferentes explantes, tais como folhas (BABU et al., 1992; IKEDA; TANABE, 1989); ponta de raiz (CRONAUER; KRIKORIAN, 1984); meristemas (BHAGYALAKSHMI; SINGH, 1988); brotos laterais (BORGES et al., 2003; BRAGA et al., 2001; FARIA; ILLG, 1995; MELLO et al., 2000); brotos da inflorescência (CHANG; CRILEY, 1993; ILLG; FARIA, 1995); gemas axilares (BARBOZA et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2000) e gemas laterais (SILVA et al., 2008).

Entretanto, escassas são as informações a respeito da propagação clonal *in vitro* de bastão-do-imperador

e, desta forma, o objetivo deste trabalho foi estabelecer um protocolo para a multiplicação *in vitro* de mudas desta espécie vegetal.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitotecnia – Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina - UEL, Estado do Paraná.

Para a propagação *in vitro* foram utilizados brotos laterais de plantas matrizes de *Etilingera elatior* de coloração vermelha, com dois anos de idade e aproximadamente $6,0 \pm 0,2$ cm de comprimento e $1,5 \pm 0,2$ cm de diâmetro, provenientes de uma propriedade localizada no município de Londrina, Estado do Paraná.

Assepsia dos explantes

Após a coleta no campo, os brotos foram encaminhados para uma sala de processamento, onde foi efetuada a sua lavagem em água corrente para a remoção de detritos de solo e retirados quatro a cinco primórdios foliares. Em seguida, os brotos foram imersos em uma solução de fungicida ($0,5$ g L⁻¹ de clorotalonil) durante 1h. Posteriormente, foram lavados e desinfestados com solução de hipoclorito de sódio 2% (v v⁻¹) durante 15 min., em agitação manual (Figura 1A).

Em câmara asséptica, com o auxílio de pinça, bisturi e estilete, após a retirada de cada primórdio foliar e padronização dos brotos para $2,0 \pm 0,2$ cm de comprimento e $0,5 \pm 0,2$ cm de diâmetro, os mesmos foram imersos em solução de hipoclorito de sódio 1% (v v⁻¹) durante 3 min. em agitação manual e, na sequência, submetidos a três lavagens sucessivas em água destilada e esterilizada em autoclave.

Fase de isolamento e estabelecimento

Os brotos axilares provindos da fase de assepsia foram inoculados em frascos de vidro transparente com capacidade de 250 mL, contendo meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, solidificado com 8 g L⁻¹ de ágar. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem do meio de cultura. Foram acrescidos ao meio de cultura MS os reguladores de crescimento BAP (benzilaminopurina), ANA (ácido naftalenoacético) e AIA (ácido indolacético) (Tabela 1), sendo as concentrações definidas conforme estudos de micropropagação descritos para outras Zingiberáceas e Musáceas (BRAGA et al., 2001; FARIA; ILLG, 1995; ILLG; FARIA, 1995).

Tabela 1. Concentrações dos reguladores de crescimento BAP, ANA e AIA, utilizados nos tratamentos contendo meio de cultura MS.

Tratamentos	Reguladores de crescimento		
	BAP (mg L ⁻¹)	ANA (mg L ⁻¹)	AIA (mg L ⁻¹)
T1 (Testemunha)	-	-	-
T2	2,25	-	-
T3	2,25	0,93	-
T4	2,25	-	0,87
T5	4,95	-	-
T6	4,95	0,93	-
T7	4,95	-	0,87

A inoculação foi realizada em câmara asséptica e os brotos dispostos individualmente nos frascos contendo 50 mL do meio de cultura, fechados com tampas plásticas transparentes e vedados com filme de PVC (Figura 1B).

As culturas isoladas foram mantidas em sala de crescimento à temperatura de 26 ± 2°C, permanecendo no escuro durante os primeiros sete dias de cultivo, para evitar a oxidação do explante e, em seguida, submetidas à intensidade luminosa de 2000 lux (medida por meio do aparelho luxímetro), com fotoperíodo de 16h de luz e 8h de escuro. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 15 repetições por tratamento e cada broto inoculado constituía uma repetição.

A cada 30 dias, durante quatro meses, as culturas isoladas foram subcultivadas no mesmo meio de cultura. Aos 120 dias, foi realizada a avaliação da proporção de sobrevivência dos brotos por meio do teste de Qui-quadrado (χ^2), para várias proporções a 5% de significância, segundo Ayres et al. (2000). Aos 150 dias, avaliou-se o número de brotações na fase de isolamento (Figura 1C), utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis a 5% de significância para a comparação dos postos médios (GOMES, 2000).

Fase de multiplicação

As brotações provenientes da fase de isolamento foram subcultivadas em um novo meio de cultura MS acrescido dos reguladores de crescimento BAP (benzilaminopurina) e ANA (ácido naftalenoacético) (Tabela 2), conforme estudos realizados por Faria e Illg (1995), Illg e Faria (1995) e Braga et al. (2001).

Tabela 2. Concentrações dos reguladores de crescimento BAP e ANA, utilizados nos tratamentos contendo meio de cultura MS.

Tratamentos	Reguladores de crescimento	
	BAP (mg L ⁻¹)	ANA (mg L ⁻¹)
T1 (Testemunha)	-	-
T2	2,25	-
T3	3,37	-
T4	4,50	-
T5	2,25	1,12
T6	3,37	2,25
T7	4,50	3,37

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com dez repetições por tratamento e cada broto inoculado constituía uma repetição. Após três meses da inoculação, foi avaliado o número de brotações por repetição (taxa de multiplicação) por meio do teste de Kruskal-Wallis para a comparação dos postos médios a 5% de significância (GOMES, 2000).

Os brotos multiplicados nesta fase foram transferidos isoladamente para o meio de cultura MS sem regulador de crescimento para o enraizamento das mudas e formação de touceiras (Figura 2A). Aos 90 dias, com a formação de uma touceira (Figura 2B), foi realizada a poda com o auxílio de uma tesoura na base das mudas formadas (Figura 2C) e avaliada a média de brotação por touceira em 50 repetições, após 30 dias. As touceiras, após o corte, foram subcultivadas no meio MS para a produção de novas plântulas e estas foram cultivadas no mesmo meio para formação de raízes e posterior aclimatização.

Resultados e discussão

Durante a fase de isolamento, aos 120 dias após a inoculação dos brotos em meio de cultura, foi observada a ocorrência de contaminações dos brotos de *E. elatior* independente do tratamento de regulador de crescimento utilizado. Estas contaminações ocorreram principalmente nos primeiros 30 e 60 dias de cultivo, uma vez que as matrizes foram provenientes diretamente do campo. Estes resultados estão de acordo com Oliveira et al. (2000) e Sá e Braga (2002) que trabalharam com rizomas de cultivares de bananeira.

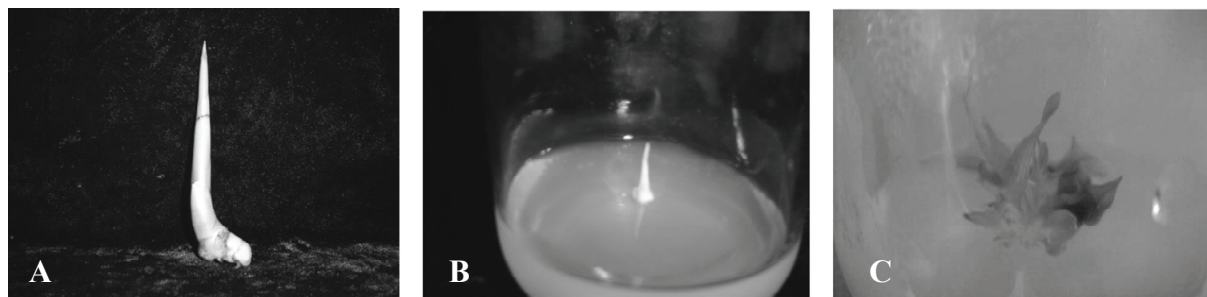


Figura 1. A. Broto de bastão-do-imperador; B. Fase de Isolamento; C. Brotações na fase de isolamento aos 150 dias.

A avaliação da proporção de sobrevivência dos brotos iniciou-se 120 dias após a inoculação destes nos diferentes tratamentos e, aos 150 dias, foi possível observar o número de brotações. Após este período, os brotos apresentavam rápido crescimento e desenvolvimento da parte aérea.

Na Tabela 3, o tratamento de menor resposta em relação à sobrevivência dos brotos foi a testemunha (MS sem regulador de crescimento) e foi possível notar, visualmente, menor sobrevivência quando utilizada a concentração de BAP de 4,95 mg L⁻¹. Nos demais tratamentos foram obtidas respostas mais eficazes porém sem diferenças estatísticas entre si. Assim, durante a fase de isolamento dos brotos, nota-se a necessidade da utilização e combinação de reguladores de crescimento que possam suprir as deficiências dos teores endógenos de hormônios nos brotos, já que estes se encontram isolados da planta matriz.

Tabela 3. Proporção de sobrevivência dos brotos (aos 120 dias) e número médio de brotações (aos 150 dias) durante a fase de isolamento de Bastão-do-imperador.

Tratamentos (mg L ⁻¹)	Sobrevivência dos brotos	Número de brotações
MS (testemunha)	0,06 ^{b1}	0,00 ^{c2}
MS + BAP 2,25	0,60a	1,24b
MS + BAP 2,25 + ANA 0,93	0,60a	1,73b
MS + BAP 2,25 + AIA 0,87	0,66a	1,69b
MS + BAP 4,95	0,46ab	2,16ab
MS + BAP 4,95 + ANA 0,93	0,73a	2,26 ab
MS + BAP 4,95 + AIA 0,87	0,73a	2,63a

¹O teste utilizado foi o Qui-quadrado (χ^2) para várias proporções a 5% de significância. ²O teste utilizado foi o Kruskal-Wallis para a comparação dos postos médios a 5% de significância.

Quanto ao número de brotações durante a fase de isolamento, o tratamento BAP 4,95 mg L⁻¹ + AIA 0,87 mg L⁻¹ foi significativamente superior aos tratamentos BAP 2,25 mg L⁻¹; BAP 2,25 mg L⁻¹ + ANA 0,93 mg L⁻¹ e BAP 2,25 mg L⁻¹ + AIA 0,87 mg L⁻¹ (Tabela 1). A combinação de BAP (4,95 mg L⁻¹) e AIA resultou num aumento substancial no número de brotações, propiciando a formação de brotos bem definidos. Faria e Illg (1995) e Illg e Faria (1995), trabalhando com *Zingiber spectabile* e *Alpinia purpurata*, respectivamente, obtiveram o resultado mais eficiente na fase de isolamento com a

combinação de BAP 2,25 mg L⁻¹ + AIA 0,87 mg L⁻¹.

Durante a fase de multiplicação não foi possível observar diferenças estatísticas entre os tratamentos quanto ao número de brotações (Tabela 4), provavelmente pelo fato de os brotos, neste período, encontrarem-se em início de desenvolvimento bem como em fase de adaptação ao novo meio de cultura, porém foi possível obter uma taxa de multiplicação de três a quatro brotos por plântula.

Tabela 4. Número médio de brotações de Bastão-do-imperador após 90 dias de cultivo nos meios de multiplicação.

Tratamentos (mg L ⁻¹)	Número de brotações
MS (testemunha)	2,70a ¹
MS + BAP 2,25	3,30a
MS + BAP 3,37	3,00a
MS + BAP 4,50	3,70a
MS + BAP 2,25 + ANA 1,12	3,20a
MS + BAP 3,37 + ANA 2,25	3,30a
MS + BAP 4,50 + ANA 3,37	3,70a

¹O teste utilizado foi o Kruskal-Wallis para a comparação dos postos médios a 5% de significância.

Os brotos provenientes da fase de multiplicação (Figura 2A) formaram touceiras no meio MS sem reguladores de crescimento (Figura 2B) e, cortadas as mudas, originaram-se em média de oito a dez novos brotos por touceira (Figura 2C), após um período de 30 dias, fato este também observado para *Zingiber spectabile* (FARIA; ILLG, 1995) e *Alpinia purpurata* (ILLG; FARIA, 1995).

Conclusão

O método de desinfestação dos brotos foi altamente eficiente, proporcionando aproximadamente 95% de brotos isentos de fungos e bactérias. Durante a fase de isolamento, a melhor concentração de regulador de crescimento foi a combinação de BAP 4,95 mg L⁻¹ + AIA 0,87 mg L⁻¹. Foram obtidas, em média, três a quatro brotações durante a fase de multiplicação. As brotações enraizaram e formaram touceiras no meio MS sem reguladores de crescimento, originando oito a dez plântulas por touceira mensalmente.



Figura 2. A. Broto proveniente da fase de multiplicação cultivado em meio MS sem reguladores de crescimento; B. Enraizamento e formação de touceira; C. Touceira subcultivada no meio MS sem reguladores de crescimento que irá produzir oito a dez brotações mensalmente.

Referências

ALMEIDA, W. A. B.; SANTANA, G. S.; RODRIGUEZ, A. P. M.; COSTA, M. A. P. C. Optimization of a protocol for the micropropagation of pineapple. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 2, p. 296-300, 2002.

AYRES, M.; AYRES, J. R.; AIRES, D. L.; SANTOS, A. S. **BioEstat 2.0**: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Brasília: CNPq, 2000.

BABU, K. N.; SAMUDEEN, K.; RATNAMBAL, M. J. *In vitro* plant regeneration from leaf-derived callus in ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 29, n. 1, p. 71-74, 1992.

BARBOZA, S. B. S. C.; CALDAS, L. S.; SOUZA, L. A. C. Micropropagação do híbrido PExSC-52 e da cultivar Smooth Cayenne de abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 8, p. 725-733, 2004.

BHAGYALAKSHMI, B.; SINGH, N. S. Meristem culture and micropropagation of a variety of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) with a high yield of oleoresin. **Journal of Horticultural Science**, v. 63, n. 2, p. 321-327, 1988.

BORGES, N. S. S.; CORREIA, D.; ROSSETTI, A. G. Influência do meio bifásico na multiplicação de gemas e no alongamento de brotos *in vitro* de *Ananas lucidus* Miller. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 9, n. 1, p. 37-44, 2003.

BRAGA, M. F.; SÁ, M. E. L. Smooth cayenne pineapple propagation by stem sections. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 1, p. 175-178, 2001.

BRAGA, M. F.; SÁ, M. E. L.; MUSTAFÁ, P. C. Avaliação de um protocolo para multiplicação *in vitro* de bananeira (*Musa* sp.) cv. Caipira (AAA). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 2, p. 215-219, 2001.

CHANG, B. K. M.; CRILEY, R. A. Clonal propagation of pink ginger *in vitro*. **HortScience**, v. 28, n. 12, p. 1203-1205, 1993.

CID, L. P. B. A propagação *in vitro* de plantas. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 3, n. 10, p. 16-17, 2001.

COLOMBO, L. A.; FARIA, R. T.; CARVALHO, J. F. R. P.; ASSIS, A. M.; FONSECA, I. C. B. Influência do fungicida clorotalonil no desenvolvimento vegetativo e no enraizamento *in vitro* de duas espécies de orquídeas brasileiras. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 26, n. 2, p. 253-258, 2004.

CRONAUER, S. S.; KRIKORIAN, A. D. Multiplication of *Musa* from excised stem tips. **Annals of Botany**, v. 53, n. 3, p. 321-328, 1984.

FARIA, R. T. **Floricultura**: as plantas ornamentais como agronegócio. Londrina: Mecenas, 2005.

FARIA, R. T.; ILLG, R. D. Micropropagation of *Zingiber spectabile* Griff. **Scientia Horticulturae**, v. 62, n. 2, p. 135-137, 1995.

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 14. ed. Piracicaba: USP/Esalq, 2000.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. C. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecido de plantas**. Brasília: Embrapa-CNPq, 1990. p. 99-169.

IKEDA, L. R.; TANABE, M. J. *In vitro* subculture applications for ginger. **HortScience**, v. 24, n. 1, p. 142-143, 1989.

ILLG, R. D.; FARIA, R. T. Micropropagation of *Alpinia purpurata* from inflorescence buds. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 40, n. 2, p. 183-185, 1995.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Os pólos da produção de flores e plantas ornamentais do Brasil: uma análise do potencial exportador. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 8, n. 1-2, p. 25-47, 2002.

KERBAUY, G. B. Clonagem de plantas *in vitro*. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 1, n. 1, p. 30-33, 1997.

LOGES, V.; TEIXEIRA, M. C. F.; CASTRO, A. C. R.; COSTA, A. S. Colheita, pós-colheita e embalagem de flores tropicais em Pernambuco. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 699-702, 2005.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil**: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 3. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2001.

MELLO, M. O.; AMARAL, A. F. C.; MELO, M. Quantificação da micropropagação de *Curcuma zedoaria* ROSCOE. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 4, p. 703-707, 2000.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-479, 1962.

NOMURA, E. S.; LIMA, J. D.; GARCIA, V. A.; RODRIGUES, D. S. Crescimento de mudas micropropagadas de bananeira cv. Nanicão, em diferentes substratos e fontes de fertilizante. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 3, p. 359-363, 2008.

OLIVEIRA, R. P.; SILVA, S. O. Avaliação da micropropagação comercial em bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 4, p. 415-420, 1997.

OLIVEIRA, R. P.; SILVEIRA, D. G.; SILVA, S. O. Efeito da desinfestação e do uso de meios indicadores de contaminação na micropropagação de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 22, n. 1, p. 57-61, 2000.

PAIVA, P. D. O.; PAIVA, R.; PASQUAL, M.; PAIVA, L.V. Estabelecimento *in vitro* de Estrelícia (*Strelitzia reginae* Banks). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 5, p. 1031-1037, 2004.

SÁ, M. E.; BRAGA, M. F. Avaliação de um protocolo para obtenção de mudas micropropagadas de bananeira cv. Prata-anã (Subgrupo AAB). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 36-39, 2002.

SEGEREN, M. I. Micropropagação *in vitro* de flores e plantas ornamentais. In: LEE, T. S. G. **Biofábrica**: produção industrial de plantas *in vitro*. Araras: UFSC, 1995. p. 45-51.

SILVA, A. L. L.; FRANCO, E. T. H.; DORNELLES, E. B.; GESING, J. P. A. Micropropagação de *Dyckia maritima* Baker - Bromeliaceae. **Iheringia, Série Botânica**, v. 63, n. 1, p. 135-138, 2008.

STANCATO, G. C.; BEMELMANS, P. F.; VEGRO, C. L. R. Produção de mudas de orquídeas a partir de sementes *in vitro* e sua viabilidade econômica: estudo de caso. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 7, n. 1, p. 25-33, 2001.

TAGLIACOZZO, G. M. D. Fitormônios e seus efeitos biológicos *in vivo* e *in vitro*. In: TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. (Ed.). **Micropropagação de Plantas Ornamentais**. Campinas: Instituto Agronômico, 1998. p. 59-62. (Boletim técnico, n. 174).

UNEMOTO, L. K.; FARIA, R. T.; MENEGUCE, B.; ASSIS, A. M. Estabelecimento de um protocolo para a

propagação *in vitro* de rainha-do-abismo (*Sinningia leucotricha* (Hohne) Moore - Gesneriaceae). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 28, n. 4, p. 503-506, 2006.

Received on August 26, 2008.

Accepted on February 11, 2009.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.