

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS CURSO DE AGRONOMIA BACHARELADO

Karina da Silva Vieira

DESENVOLVIMENTO DE UM PROTOCOLO DE ESTABELECIMENTO IN VITRO DA BANANEIRA (Musa sp.)

SÃO LUÍS 2019

Karina da Silva Vieira

DESENVOLVIMENTO DE UM PROTOCOLO DE ESTABELECIMENTO IN VITRO DA BANANEIRA (Musa sp.)

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia Bacharelado do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador(a): Dra. Luciene Souza Ferreira

Vieira, Karina da Silva.

Desenvolvimento de um protocolo de estabelecimento in vitro da bananeira / Karina da Silva Vieira.— São Luís, 2019.

30 f

Monografia (Graduação) – Curso de Engenharia Agronômica, Universidade Estadual do Maranhão, 2019.

Orientador: Profa. Dra. Luciene Souza Ferreira.

1. Cultura de tecido. 2. Banana. 3. Micropropagação. I. Título

Elaborado por Giselle Frazão Tavares- CRB 13/665

Karina da Silva Vieira

DESENVOLVIMENTO DE UM PROTOCOLO DE ESTABELECIMENTO IN VITRO DA BANANEIRA (Musa sp.)

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Engenheiro(a) Agrônomo(a).

Aprovada em: 11/12/2019

BANCA EXAMINADORA

Dr^a. Luciene Souza Ferreira — **Orientadora** Programa de Pós-Graduação em Agroecologia — UEMA

tricka Rayene dis Sontes Marines

Msc. Tácila Rayene dos Santos Marinho — **1ª Examinadora** Programa de Pós-Graduação em Agroecologia - UEMA

Givage hopes Alves

Msc. Givago Lopes Alves – **2 Examinador** Programa de Pós-Graduação em Agroecologia - UEMA

Dedico a Deus e a minha família, pois sem eles eu não teria realizado esse sonho.

AGRADECIMENTOS

Dedico primeiramente a Deus, meu melhor amigo e consolador, que me guiou por toda essa longa jornada, que me amparou quando já não encontrava mais chão.

A minha família, pelo apoio e ajuda financeira, em especial ao meus País, Sra. Alzenira Oliveira da Silva e Sr. João Batista Ribeiro Vieira, por serem o meu motivo de nunca parar de lutar.

Aos meus amigos da turma 2015.1, pela amizade, companheirismo e por todos esses anos de muita cumplicidade. Agradeço a Deus por ter tido a oportunidade de viver essa linda fase com vocês, Marcus Vinícius, Robert Filipe, Jamires Avelino, Phelipe Araújo, Jonas Mesquita, Luana Corrêa e tantos outros que eu nunca vou esquecer.

Agradeço aos meus professores de graduação e de iniciação de cientifica, por me dar uns dos bens mais valiosos, que é o conhecimento.

A minha orientadora Dra. Luciene Ferreira, por não desistir de mim, mesmo muitas vezes eu merecendo, pela paciência e dedicação em me orientar neste trabalho. A Prof ^a Thaís Corrêa por me apresentar a cultura de tecidos de forma tão cativante e profissional.

Aos meus colegas do laboratório de cultura de tecido, em destaque aos melhores doutorandos da UEMA, Tácila Marinho e Givago Alves pelo auxílio e dedicação, em estar comigo durante toda essa fase.

A Universidade Estadual do Maranhão pela oportunidade de cursar um ensino superior de qualidade.

Seja forte e corajoso e mãos à obra!

Não desanime, nem tenha medo, pois o Senhor, meu Deus, estará com você. Ele não o abandonará, mas ficará com você até terminarem todas as obras da construção do Templo.

1 crônicas 28:20

cromeds 20.20

RESUMO

A cultura da banana é de grande importância por ser uma das frutas mais consumidas no mundo e produzida em grandes áreas no Brasil. O estado do Maranhão possui regiões consideradas polos produtores, necessitando assim de uma grande demanda de mudas com alta qualidade fitossanitária para suprir a necessidade dos plantios comerciais. Neste sentido a cultura de tecidos se apresenta como uma alternativa para a produção de mudas com alta qualidade fitossanitária e vegetativa. Objetivou-se com este trabalho desenvolver um protocolo de estabelecimento da bananeira in vitro. Para tanto, mudas do tipo chifre, chifrinho, chifrão e guarda-chuva, foram coletadas do bananal da fazenda escola da UEMA, e em laboratório foram limpas, reduzido o tamanho e desinfestadas. Assepticamente em fluxo laminar foram cortadas até o meristema apical, novamente desinfestadas e estabelecidos em três diferentes meios de cultura: meio MS, meio MS com adição de 2,5 µM de BAP (6- benzilaminopurina) e meio MS com adição de 0,5µM de ANA (Ácido naftaleno acético) e 1,5µM de BAP (6benzilaminopurina). As avalições quanto a porcentagem de resposta dos explantes, foram realizadas da segunda até a quinta semana após estabelecimento. Concluiu-se que houve uma baixa taxa de contaminação no experimento. Os três meios de cultivo apresentaram o estabelecimento dos explantes em tempos diferentes de resposta, onde o tratamento com 2,5µM de BAP apresentou resposta mais rápida.

Palavras-chaves: Cultura de tecido. Banana. Micropropagação.

ABSTRACT

Banana crop is of great importance as it is one of the most consumed fruits in the world and produced in large areas in Brazil. The state of Maranhão has regions considered as producing poles, thus requiring a great demand for seedlings with high phytosanitary quality to supply the need for commercial plantations. In this sense, tissue culture presents itself as an alternative for the production of seedlings with high phytosanitary and vegetative quality. The objective of this work was to develop an in vitro banana establishment protocol. For this, seedlings of the type horn, horn, horn and umbrella were collected from the banana plantation of the UEMA school farm, and in the laboratory were cleaned, reduced in size and disinfected. Aseptically in laminar flow they were cut to the apical meristem, disinfected again and established in three different culture media: MS medium, MS medium with addition of 2.5 µM BAP (6benzylaminopurine) and MS medium with 0.5µM addition. ANA (Naphthalene Acetic Acid) and 1.5µM BAP (6-benzylaminopurine). Evaluations for explant response percentage were performed from the second to the fifth week after establishment. It was concluded that there was a low contamination rate in the experiment. The three culture media presented explant establishment at different response times, where the treatment with 2.5µM BAP showed faster response.

Keywords: Tissue culture. Banana. Micropropagation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
	2.1. Cultura da banana	12
	2.1.1 Classificação botânica e origem	12
	2.1.2 Morfologia	13
	2.1.3 Importância Socioeconômica	14
	2.1.4 Cultivares	16
	2.1.5 Métodos de propagação	16
	2.1.6 Micropropagação	17
3	METODOLOGIA	18
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5	CONCLUSÃO	24
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos principais produtores mundiais de banana com área plantada de 491 hectares e área colhida de 455 mil hectares no ano de 2019 (IBGE, 2019). A produção brasileira de banana está distribuída por todo o território nacional, a região Nordeste a maior produtora (35%), seguida do Sudeste (33%), Sul (16%), Norte (12%) e Centro-Oeste (4%) (IBGE, 2013). No nordeste o estado do Maranhão, mais especificamente a região do Mearim (representada pelos municípios de Pedreiras, Trizidela do Vale, Lima Campos, Joselândia, São Luis Gonzaga, Lago Verde e Santo Antônio dos Lopes), caracteriza se como o pólo produtor do Estado, correspondendo em torno de 35.000 toneladas, numa produção total de 90.000 toneladas ou seja, mais de 1/3 da produção estadual, (SAGRIMA, 2016). Com o aumento da produção se faz necessário a renovação dos plantios, o que exige uma grande quantidade de mudas com elevada qualidade fitossanitária.

O plantio comercial da bananeira (*Musa* sp.) é estabelecido por meio da propagação vegetativa pelo método tradicional utilizando mudas do tipo chifrão, chifre, chifrinho e fracionamento do rizoma. Pelo método tradicional, mesmo o material sendo de ótima qualidade, o processo é lento e permite a disseminação de doenças e pragas como sigatoka negra, sigatoka amarela, mal-do-Panamá, broca do rizoma e nematoides (SOUZA et al., 2006). Estudos recentes têm mostrado que a propagação *in vitro* é uma alternativa, pois permite o controle das condições ambientais, nutricionais e de agentes patogênicos. Mudas advindas dessa técnica possuem alta qualidade fitossanitária e uniformidade na produção em tempo reduzidos (REGUEIRA et al., 2018; SILVESTRI et al., 2018).

No processo de micropropagação da bananeira a fase mais crítica é o estabelecimento dos ápices caulinares *in vitro*, em função da contaminação por microrganismos que competem com os explantes pelos nutrientes do meio de cultura, libera metabólitos tóxicos neste meio, podendo ocasionar a morte da plântula (PEREIRA et al., 2011), e pela oxidação caracterizada pelo escurecimento do ápice caulinar ou até mesmo do meio de cultivo (GRATTAPAGLIA E MACHADO 1998). A utilização de fitoreguladores de crescimento vegetal é importante para o estabelecimento da banana *in vitro* pois o princípio de regenerar novas plantas a partir de um único propágulo se baseia na ativação do crescimento de gemas axilares presentes na inserção das folhas na base do rizoma, por meio de balanço hormonal (SCHERWINSKI-PEREIRA et al., 2009).

Em vista da ausência de biofábricas ou laboratórios universitários que realizam está prática no território maranhense, os agricultores do estado possuem uma dependência da

compra de mudas com qualidade fitossanitária de outros estados. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um protocolo eficiente de estabelecimento *in vitro* da cultura da banana, testando diferentes meios de cultivo, com e sem reguladores de crescimento vegetal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura da Banana

2.1.1 Classificação botânica e origem

As bananeiras produtoras de frutos comestíveis são plantas da classe das Monocotyledoneae, ordem Scitaminales, família Musaceae, da qual fazem parte as subfamílias Heliconioideae, Strelitzioideae e Musoideae. Os gêneros Ensete e Musa, é constituída por quatro séries ou seções: Australimusa, Callimusa, Rhodochlamys e (Eu-) Musa (SIMMONDS, 1973).

A seção (Eu-) Musa é a mais importante, uma vez que, além de ser formada pelo maior número de espécies desse gênero, apresenta ampla distribuição geográfica e abrange as espécies comestíveis. A classificação proposta por Cheesman (1948) para o gênero Musa, aceita atualmente no mundo inteiro, baseia-se no número básico de cromossomos dividido em dois grupos da seguinte maneira: as espécies com n = 10 cromossomos pertencem às seções Australimusa e Callimusa, enquanto as espécies com n = 11 cromossomos integram as seções Rhodochlamys e (Eu-)Musa. As espécies componentes destas duas últimas seções são as que apresentam potencialidade como germoplasma útil ao melhoramento genético das variedades cultivadas. Segundo Shepherd (1990), tais espécies são:

- a) Rhodochlamys: M. laterita Cheesman, M. ornata Roxburgh, M. rubra, M. sanguinea e M. velutina Wendl e Drude.
- b) (Eu-)Musa: M. acuminata Colla, M. balbisiana Colla, M. flaviflora Simmonds, M. halabanensis Meijer, M. ochracea Shepherd e M. schizocarpa Simmonds.

A bananeira tem seu centro de origem na Ásia e se dispersou para África e América, atualmente é cultivada em todo o planeta, tendo preferência para os países de clima tropical, onde a banana ouro, banana prata, banana maçã e banana nanica, são as variedades mais cultivadas (FILHO et al., 2008). No Brasil, as bananeiras existem desde antes do seu descobrimento onde os indígenas se alimentavam *in natura* de bananas de uma cultivar muito digestiva que se supõe tratar-se da 'Branca' e outra, rica em amido, que precisava ser cozida

antes do consumo, chamada de 'Pacoba' conhecida atualmente como a cultivar Pacová. (MOREIRA, 1999 e PEREZ et al., 2001).

2.1.2 Morfologia

A bananeira é uma planta herbácea completa, pois apresenta raiz, caule, folhas, flores, frutos e sementes. O caule é subterrâneo denominado rizoma, sendo o centro vital da bananeira, pois é nele que ocorre a formação das raízes, folhas, inflorescências e rebentos. É uma estrutura cônica, com eixo central curvo virado para cima e formado por muitos entrenós curtos. A partir dos nós existentes no rizoma surgem as raízes, enquanto da sua parte apical originam-se as folhas e a gema floral (MOREIRA, 1999).

O rizoma é constituído de duas zonas, o córtex que desempenha um papel de proteção e é basicamente constituído pelo parênquima, onde estão os feixes vasculares que suprem as folhas, raízes e rebentos e o cilindro central, de onde se originam o sistema radicular e aéreo. À medida que a planta se aproxima da fase de florescimento, aparte central do rizoma começa a necrosar-se da base para o ápice. Este fenômeno inativa as raízes basais e limita a emissão de novos rebentos. Um rizoma bem desenvolvido pode ter de 25 a 40cm de diâmetro o e 6,9 a 11,5 quilos de acordo com a cultivar e a idade da planta (SOTO BALLESTERO, 1992). O sistema radicular é fasciculado distribuído por toda a superfície do rizoma, em processo de diferenciação contínua, surgindo durante a fase vegetativa de crescimento (MOREIRA, 1987).

As raízes podem atingir até 5 metros de comprimento, porém superficial, com aproximadamente 30% localizadas na profundidade de 0-10cm e 82% concentrando-se na camada de 0-50 cm, dependendo da variedade e condições de solo (BORGES; SOUZA, 2004). Durante os primeiros meses de crescimento vegetativo, a produção de raízes é abundante, ocorrendo simultaneamente com o processo de formação das folhas, e cessa na época do florescimento. A morte das folhas por senescência ou por ataque de pragas ou doenças que determina a morte das raízes formadas na mesma época (MOREIRA, 1999).

As folhas da bananeira são formadas por bainha foliar, pecíolos, nervuras e limbo foliar, se formam pelas sucessivas bipartições da gema apical, dando origem também as gemas laterais de brotação assim a bananeira apresenta tantas gemas laterais quantas forem as folhas geradas (MOREIRA, 1999). A fixação das bainhas foliares no rizoma ocorre de forma concêntrica, gerando arcos cujas extremidades não se tocam. Internamente, a bainha possui numerosos espaços aeríferos corados por finos diafragmas, formando espaços que se prolongam até o limbo

(SOTO BALLESTERO, 1992). Essa estrutura formada pela união das bainhas foliares é denominada pseudocaule que pode atingir dimensões variáveis entre 1,2 a 8m de altura com 10 a 50cm de diâmetro. Forma uma estrutura resistente que suportam os limbos foliares e o cacho. (MANICA, 1997). O intervalo de emissão das folhas varia com as condições ecológicas e com a cultivar, pode ocorrer entre 7 a 11 dias. Uma bananeira pode emitir entre 30 a 70 folha 4 durante seu ciclo vital. Anteriormente ao aparecimento da inflorescência, a bananeira emite as últimas 3 ou 4 folhas com dimensões cada vez menores. A última folha lançada tem sua conformação mais coriácea, formato típico, com as nervuras secundárias muito pronunciadas e frequentemente secas durante o desenvolvimento do cacho (MOREIRA, 1987).

2.1.3 Importância Socioeconômica

As exportações globais de bananas, excluindo a banana-da-terra, atingiram um recorde de 19,2 milhões de toneladas em 2018, devido a um amplo crescimento no fornecimento. Os números reportados para o ano inteiro indicam um aumento nas remessas globais de 5,7% em relação a 2017. O forte crescimento da oferta nos dois principais exportadores, Equador e Filipinas, foi o principal responsável por esse aumento. Enquanto isso, condições climáticas adversas continuaram afetando as remessas de vários outros fornecedores-chave, principalmente Costa Rica e República Dominicana. (FAO, 2019).

A banana é uma fruta tropical amplamente consumida e produzida no mundo, devido ao seu alto valor nutricional e medicinal (KIROGO, 2006). Além de ser uma fonte rica de nutrientes como potássio, carboidratos e vitamina A, fornecendo mais de 25% das necessidades de carboidratos para mais de 70 milhões de pessoas no mundo (NJUE, 2015). Na maioria dos países em desenvolvimento, a banana é classificada como a quarta maior colheita de alimentos, depois do arroz, trigo e milho, e é a principal fonte de emprego, bem como a renda dentro e fora da fazenda em suas principais áreas de produção (TUMUHIMBISE E TALENGERA, 2018).

No Brasil é cultivada em praticamente todos os estados, principalmente os pequenos produtores, mais também por médios e grandes produtores, possui uma produção estimada em 7,2 milhões de toneladas, em uma área de 530,8 mil hectares, com crescimento de 1,1%, em relação ao ano de 2018 e com rendimento médio, de 14,633 kg/ha (IBGE, 2018).Os estados de São Paulo, Bahia, Pará, Santa Catarina, Minas Gerais, Pernambuco, Ceará, Paraíba e Rio de Janeiro são os maiores produtores, sendo desenvolvidas atividades em nível empresarial. Além de grande produtor, o Brasil é grande consumidor da fruta, considerando que praticamente não há exportação do país (apenas cerca de 1% é exportado) e toda a produção é consumida

internamente (FAO, 2017). O Brasil foi responsável pela exportação de 83.944 toneladas de bananas em 2014 (SEBRAE, 2015). Em 2016, a exportação foi de 63.600 toneladas e a estimativa para 2017 foi de 62.900 toneladas (FAO, 2017), podendo ser observada uma redução no volume da exportação de bananas no decorrer dos anos. Em 2015, as maiores quantidades de bananas brasileiras foram exportadas para o Uruguai, Argentina e Reino Unido (SEBRAE, 2016).

A evolução da bananicultura brasileira foi possível diante da disponibilidade de material genético diversificado, mudas sadias e de boa qualidade genética, práticas culturais de manejo pré e pós-colheita, técnicas fitossanitárias desenvolvidas, técnicas de nutrição e de irrigação e melhoria do nível técnico e organizacional do produtor (LICHTEMBERG; LICHTEMBERG, 2011). Na região Centro Oeste, a bananicultura é a principal atividade frutícola (EMATER, 2018), mesmo sendo a região com menor produção da fruta, em escala nacional, correspondendo a 4% da produção brasileira (BORGES ET AL., 2012). De acordo com Gontijo (2017), a produção de bananas no Distrito Federal é pequena, mas de qualidade por causa da proximidade entre o polo produtor e os estabelecimentos comerciais que atende. São 170 hectares de área cultivada na capital, a maior parte, por pequenos produtores. Além das condições favoráveis à comercialização, o Distrito Federal reúne boas condições climáticas para o cultivo da fruta.

O Nordeste é considerado o maior produtor brasileiro de bananas. Segundo dados realizados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística no ano de 2018, ocorreu um aumento nas estimativas de produção de 4,8%, onde encontram-se em destaque os estados de Pernambuco (26,7%, incremento de 86,2 mil toneladas) e Rio Grande do Norte (39,1%, incremento de 58,1 mil toneladas). No estado do Ceará, a estimativa da produção recuou 7,7%, ou menos 32,2 mil toneladas.

2.1.4 Cultivares

No cultivo pelo Brasil poucos genótipos possuem potencial agronômico para exploração comercial com alta produtividade, tolerância às pragas e doenças, porte reduzido e menor ciclo de produção, apesar do grande número de cultivares existentes (Ramos et al., 2009). As cultivares mais difundidas no Brasil são: Prata, Pacovan, Prata Anã, Maçã, Mysore, Terra e D'Angola, do grupo AAB, utilizadas unicamente para o mercado interno, e Nanica, Nanicão e Grande Naine, do grupo AAA, usadas principalmente no mercado para exportação (Tabela 1).

Em menor escala são plantadas 'Ouro' (AA), a 'Figo Cinza' e 'Figo Vermelho' (ABB), 'Caru Verde' e 'Caru Roxa' (AAA). As cultivares Prata, Prata Anã e Pacovan são responsáveis por aproximadamente 60% da área cultivada com banana no Brasil (Silva et al., 2001).

A banana prata foi introduzida no Brasil pelos portugueses e, por esta razão, os brasileiros, especialmente os nordestinos e nortistas, manisfestam uma clara e constante preferência por seu sabor, apresenta frutos pequenos, de sabor doce e suavemente ácidos (SILVA, 2004).

2.1.5 Métodos de propagação

A bananeira (*Musa spp.*) pode ser propagada de forma sexuada ou assexuada (ALVES et al., 2004). A sua propagação via semente, não é comumente utilizada pois as flores femininas dificilmente podem ser fecundadas, devido a um atrofiamento do estigma que impede a passagem do pólen. Entretanto, em casos raros, este atrofiamento pode não ocorrer e a fecundação se processa normalmente, surgindo desta forma sementes férteis (MOREIRA, 1999). Assim logo a propagação da bananeira por meio de semente só é realizada para fins de melhoramento genético, uma vez que as bananas se formam naturalmente por partenocarpia. (MEDEIROS, 2015)

Na natureza a multiplicação ocorre normalmente, por via vegetativa, através da emissão de brotações (LICHTEMBERG et al., 2011). Uma bananeira pode produzir tantas mudas quantas forem as suas folhas emitidas (38 ± 2). Contudo, a variedade, o porte da bananeira e a idade da planta-mãe são fatores importantes na determinação do número de rebentos emitidos até o surgimento do cacho, uma bananeira em média produz apenas de nove a dez mudas, em período geralmente superior a 12 meses, em condições de campo, e algumas não são de boa qualidade (ALVES; LIMA; SANTOS-SEREJO, 2015). Segundo Nomura e Fuzitani (2005), essas mudas são formadas por um rizoma ou parte dele, com um pedaço maior ou menor de pseudocaule, desse rizoma, uma ou mais gemas (apical ou laterais) irão brotar, e cada uma produzirá uma nova bananeira.

Nakayama (2012), cita os seguintes tipos de propagação convencional: Mudas dos tipos "chifrinho", "chifre" e "chifrão", fracionamento do rizoma, rizoma inteiro invertido, viveiro de mudas no campo e propagação rápida, que são método de propagação convencional, in natura, com eliminação das folhas basais facilitando a exposição das gemas do rizoma, também chamada de descorticação, bem como o seu tratamento com soluções desinfestantes

que são práticas importantes para a manutenção da sanidade do bananal (TULMANN NETO et al., 1989).

Quando se dispõe de um cultivo comercial bem estabelecido, com qualidade fitossanitária, que a idade do rizoma não seja superior a três anos, pode-se obter mudas dos filhos que não foram selecionados para dar continuidade à unidade de produção (BORGES, A. L.; SOUZA, L. da S., 2004). (REPETIDO). No entanto, essas mudas apresentam baixa taxa de multiplicação, além de resultar em mudas desuniformes, dificultando o manejo do pomar, e podendo ainda se constituir em um mecanismo de disseminação de pragas e doenças, tais como mal-do-panamá, moko, podridão- -mole, broca, nematoides e vírus (ROELS et al., 2005). A presença de pragas e doenças constitui, portanto, motivo de preocupação para o agricultor por representar uma ameaça constante à produção vegetal dessa fruta (CORDEIRO, 2000).

2.2 Micropropagação

A cultura de tecidos pode ser definida como um conjunto de técnicas que permitem a cultura de órgãos, tecidos, células e protoplastos em condições assépticas, empregando meios nutritivos artificiais. Essas técnicas podem ser aplicadas para a obtenção de plantas livres de patógenos, propagação massiva de plantas, conservação de germoplasma, melhora por mutagênese *in vitro* e engenharia genética (PIZA; PINHO, 2002). As técnicas de cultura de tecidos têm sido empregadas de diferentes formas no desenvolvimento de cultivares de plantas *in vitro*, podendo oferecer novas alternativas aos programas de melhoramento em suas diferentes fases e, muitas vezes, oferecem soluções únicas (FERREIRA, et al., 1998). O agronegócio busca constantemente por técnicas inovadoras e modernas que visam aumentar a eficiência das culturas, produzir produtos de melhor qualidade e garantir a segurança alimentar. Nesse sentido, a cultura de tecidos, em especial a micropropagação, vem sendo empregada para atender a essas demandas (FINANCIAL TRIBUNE, 2015), revolucionando o cenário da agricultura em todo o mundo, por meio da produção massal de mudas de várias espécies vegetais de interesse econômico (SHUKLA et al., 2012).

A micropropagação permite a produção de quantidades superiores de mudas sadias, livres de microrganismos, usando um pequeno número de explantes. Em comparação com as técnicas de propagação convencionais, a propagação *in vitro* apresenta vantagens, como produção de mudas sadias, em larga escala e possibilita propagar espécies de difícil propagação

(ERIG E SCHUCH, 2005; CARVALHO ET AL., 2011; BHOJWANI E DANTU, 2013; OLIVEIRA ET AL., 2013, WAMAN ET AL., 2014).

Na micropropagação, os reguladores de crescimento, especialmente as auxinas e citocininas, desempenham um papel muito importante. A citocinina, auxilia no processo de estabelecimento de espécies vegetais *in vitro*, onde desempenha papel crucial na modulação dos processos fisiológicos de desenvolvimento, sendo que na suplementação exógena tem sido empregado com maior frequência o BAP (6- benzilaminopurina) por ser altamente efetivo na formação e atividade dos meristemas apicais, e pela maior estabilidade quando comparada as demais fontes (ALMEIDA; RODRIGUES, 2016). Outro hormônio bastante utilizado no estabelecimento de espécies vegetais *in vitro* são as auxinas, que promovem a divisão, diferenciação e alongamento celular e são responsáveis pela dominância apical. Em baixas concentrações, as auxinas auxiliam no crescimento normal de embriões e da raiz, enquanto que em concentrações mais elevadas, pode apresentar efeito inibitório ou favorecer na formação de calos (TAIZ; ZEIGER, 2017). Alguns exemplos de auxinas, ANA (ácido naftaleno acético), AIB (ácido indo butírico), AIA (ácido indol acético) (WAMAN ET AL., 2014).

A instalação de um bananal comercial a partir de mudas micropropagadas, contribui para o incremento da produtividade, longevidade e lucratividade do empreendimento, tanto em sistemas convencionais como em sistemas orgânicos (MARTINS et al., 2011). Mudas de bananeira micropropagadas são comercializadas com cerca de cinco a dez centímetros de altura, em bandejas ou raiz nua, necessitando de um período de aclimatização em viveiro sombreado, em recipientes contendo substrato para que alcancem o tamanho adequado para o plantio no campo. Esse processo também pode ser realizado na própria propriedade, reduzindo custos e o estresse das mudas no transporte (NOMURA et al., 2009).

3. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no laboratório de cultura de tecidos (LCT) e laboratório de genética molecular (LABWICK) do centro de ciências biológicas da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), localizando na cidade de São Luís – MA. As mudas de bananeiras do tipo chifrinho, chifre e guarda-chuva, provenientes da cultivar 'prata', foram coletadas da coleção de cultivares de banana da fazenda escola da UEMA – campus Paulo VI, com as seguintes coordenadas geográficas 2º 35'16"S e 44º 12'20"W. A região possui um clima equatorial quente e semi-úmido, com duas estações bem definidas: uma estação chuvosa que se estende de janeiro a junho e uma estação seca com déficit hídrico acentuado de julho a dezembro. As mudas foram coletadas em 23 de setembro de 2019, durante a estação seca com a temperatura média de aproximadamente 27 °C, a temperatura máxima foi de 37 °C e a temperatura mínima foi de 23 °C.

A princípio foi realizado uma lavagem dos rizomas em água corrente, seguido de cortes da parte foliar e do sistema radicular (figura 1). Os rizomas foram levados aos laboratórios de cultura de tecidos e de genética molecular.

Figura 1. a) Retiradas das mudas de banana da cultivar prata e b) lavagem dos rizomas da banana após a retirada do campo.



O rizoma foi reduzido a um tamanho aproximado de 3 a 4 cm de altura, utilizando uma faca, que a cada corte foi desinfestada em uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, após

este procedimento o material foi imerso em uma solução hipoclorito de sódio com a concentração de 2% e adicionado 1 gota de solução de Tween® para cada 100ml da solução desinfestante por 20 minutos (Figura 2). A desinfestação utilizada no trabalho, foi desenvolvida anteriormente através de outros testes realizados com uso das variedades Fhia 18 e Pacovan ken, agora testado com a cultivar Prata.

A desinfestação dos explantes da bananeira consistiu em duas etapas, a primeira os materiais vegetais, foram levados para a câmara de fluxo laminar e com o auxílio de pinças e bisturis, foi retirado o excesso de tecido para redução do tamanho destes, até a visualização do meristema apical caulinar da banana, na segunda etapa, os explantes foram desinfestados em condições assépticas com sua imersão em álcool 70% por 2 minutos, posteriormente em outra solução de hipoclorito de sódio a 2% adicionado 1 gota de Tween® 20 para cada 100 mL da solução desinfestante por mais 20 minutos, em seguida realizou-se tríplice lavagem em água destilada e estéril por 2 minutos cada, para retirada do excesso das soluções desinfestantes.

a) b)

Figura 2. a) Cortes dos tecidos externos do rizoma da banana e b) Imersão dos rizomas na primeira solução de hipoclorito de sódio.

Fonte: Vieira, (2019).

O meio de cultura padrão utilizado foi o MS (MURASHIGUE & SKOOG, 1962) composto de macro, micronutrientes e vitaminas, e adicionado diferentes concentrações de reguladores de crescimento vegetal. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) com 3 tratamentos e 6 repetições, sendo os tratamentos compostos por T1 - MS com 0,5µM de ANA e 1,5µM de BAP, T2 - MS com 2,5µM de BAP e T3 - Meio MS. Para a formulação dos tratamentos, o meio padrão foi divido em três recipientes, onde adicionou se

as concentrações de cada regulador crescimento. O pH foi ajustado para aproximadamente 5,7, após a ajustagem, os meios foram transferidos para os 18 frascos, com 30ml de meio em cada. Em seguida, os frascos foram autoclavados por 120 °C, a 1 atm., por 20 minutos. O processo de inoculação da cultura foi realizado em câmara de fluxo laminar, cada frasco com apenas um explante, e levados para sala de crescimento, com temperatura 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 16 horas de luz, a uma intensidade luminosa aproximadamente 45µmolm⁻² s⁻¹. As avaliações foram realizadas da data de inoculação, que foi 24 de setembro de 2019 até a 5ª semana de estabelecimento.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

No estabelecimento dos explantes, foi observado a contaminação por bactérias na segunda semana de avaliação do experimento, a perda por contaminação foi de 11%. Singh et at. (2011) explica que a contaminação dos ápices caulinares de bananeira, após a inoculação *in vitro*, é mais frequente por bactérias do que por fungos, isso por causa da alta umidade presente nos tecidos da planta, sendo que os rizomas coletados em épocas chuvosas ou em plantios excessivamente irrigados, a ocorrência de contaminação *in vitro* é mais elevada, acarretando a eliminação de grande parte dos explantes.

O material vegetal utilizado neste trabalho foi coletado no período seco, apresentando assim uma baixa umidade em seus tecidos, impedindo o desenvolvimento de alguns microrganismos, o que pode ter favorecido o baixo índice de contaminação. A metodologia de desinfestação utilizada foi suficiente para que ocorresse a assepsia dos ápices caulinares, o que também foi relatado por Pereira et al., (2011) e Pereira et al., (2015) nos trabalhos utilizando explantes de bananeira 'Grande Naine' e 'Thap maeo' com 2% de cloro ativo por 20 min, obtiveram uma redução na contaminação por bactérias e fungos dos explantes.

Em todos os meios testados houve estabelecimento dos explantes (Figura 3), mas em diferentes tempos de respostas. Após as duas primeiras semanas os explantes com os meios T2 apresentaram 60% com a coloração esverdeada, 40% a mais que o tratamento T3 e 20% comparado ao tratamento T1, foi observado então que os tratamentos T1 e T3 não apresentaram alterações visuais no início do processo de estabelecimento, somente na terceira semana começou ocorrer o processo de soltura dos tecidos externo e emissão da nova folha. Na quinta semana do experimento todos os explantes do tratamento T2 já apresentavam coloração verde e emissão da nova folha. Chernyad'ev (2000), explica que durante os estágios iniciais de desenvolvimento foliar, há predominância da atividade de citocininas, determinando a taxa

máxima de cloroplasto e divisão celular, formação de membranas e síntese de proteínas. Após esta fase de crescimento linear, ocorre redução da atividade de citocinina e, em contraste, aumento da atividade de auxina, estimulando o alongamento das células mesofílicas, isso pode explicar o motivo pelo qual na fase inicial do estabelecimento, o tratamento com maior concentração de citocinina (T2) obteve os melhores resultados, e o tratamento com adição auxina e uma menor concentração de citocinina (T1) precisou de um tempo a mais para responder.

Santos et al. (2011), em sua pesquisa sobre estabelecimento do abacaxi, explica que das citocininas disponíveis comercialmente, o BAP é a que geralmente proporciona melhores resultados, cuja função na cultura de tecidos é estimular a divisão celular, atuando no processo de morfogênese.

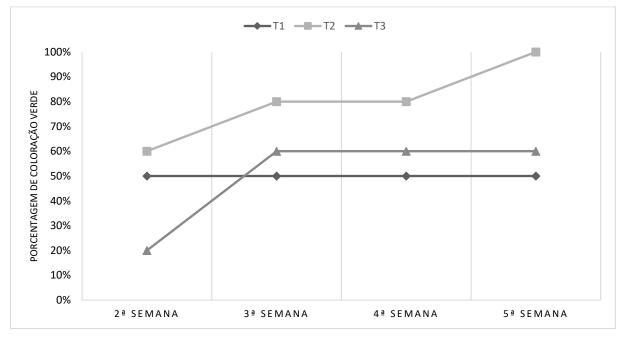


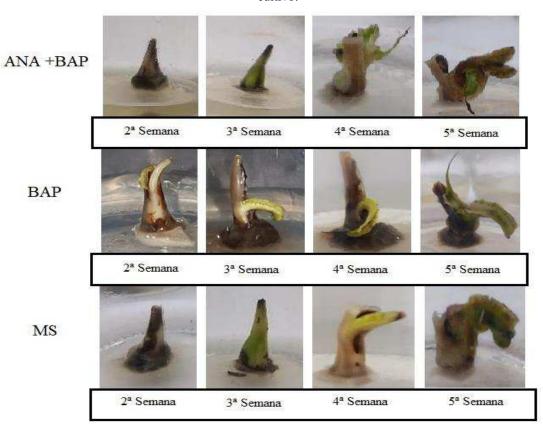
Figura 3. Percentual de coloração verde dos explantes durante as semanas de estabelecimento.

Em plantios comerciais que exija uma alta demanda de mudas em um curto espaço de tempo, o uso de reguladores de crescimento pode ser uma alternativa para uma resposta mais rápida do explante. Mas o tratamento com o meio MS, mostrou que houve o estabelecimento dos explantes exigindo um maior tempo de resposta, também se tornando uma alternativa para a produção de mudas na ausência dos reguladores. Faria et al., (2007) explica que o meio MS é utilizado com sucesso na regeneração de microplantas para a maioria das espécies. De acordo com Carvalho, et al (2011), algumas cultivares de bananeira são capazes de se desenvolver adequadamente em meio MS, sem adição de auxina ao meio, como a cultivar Williams. Arruda

et al. (2017), também encontrou resultados positivos com o uso do meio somente do meio MS no estabelecimento *in vitro* de ápices caulinares de morangueiro, cultivar Jonica.

Com base na figura 4 podemos observar o desenvolvimento dos ápices caulinares de cada tratamento, durante as cinco semanas de estabelecimento da cultura, onde houve mudanças de coloração e o rompimento dos tecidos externos até o aparecimento das primeiras folhas. Observou se diferentes respostas com utilização ou não dos reguladores de crescimento e que o tratamento com maior concentração de citocinina (T2), apresentou a abertura da folha anterior aos outros tratamentos. Resmi e Nair, (2011) em seu trabalho com cultivares de banana diploides e triploides, cita que os efeitos superiores da citocinina podem ser atribuídos à sua alta estabilidade nas culturas *in vitro*, tendo em vista não ser degradada com facilidade, persistindo, assim, no meio de cultura por mais tempo.

Figura 4. Desenvolvimento dos explantes durante as semanas de estabelecimento em diferentes meios de cultivo.



5. CONCLUSÃO

A desinfestação utilizada no trabalho reduz a contaminação por fungos e bactérias em explantes de bananeira da cultivar Prata.

O tratamento T2, apresentou resposta mais rápida quando comparado com os outros tratamentos.

O explantes do tratamento T1, não mostrou diferença em resposta *in vitro*, comparado aos demais tratamentos estudados, obtendo resposta semelhante ao tratamento somente com MS (T3). O tratamento T3 mesmo apresentando resposta mais demorada que o tratamento com adição de 2,5µM BAP (T2), pode se tornar uma alternativa viável para o estabelecimento da banana.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, G.M.; RODRIGUES, J.G.L. Desenvolvimento de plantas através da interferência de auxinas, citocininas, etileno e giberelinas. **Applied Research & Agrotechnology**, V.9, n.3, 2016.

ALVES, Élio José; LIMA, Marcelo Bezerra; SANTOS-SEREJO, Janay Almeida dos. Propagação. In: CLAUDIA FORTES FERREIRA (Brasil). Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Ed.). **O Agronegócio da Banana.** Brasilia: Embrapa Informação Tecnológica, 2015. p. 59-86.

ARAUJO, A. G. de; VAL, A. D. B.; SOARES, J. D. R.; RODRIGUES, F. A.; PASQUAL, M.; ROCHA, H. S.; ASMAR, S. A.; CORDEIRO, Z. J. M.; SILVA, S. de O. Host-pathogen interactions of Musa spp. and Mycosphaerella musicola with epidemiological variables and leaf anatomy within the pathosystem of Yellow Sigatoka disease. **Australian Journal of Crop Science**, volume 8, issue 8, Aug 2014.

ARRUDA, Ana Luiza et al. Diferentes concentrações de sais do meio MS no estabelecimento in vitro de morangueiro. **Revista da Jornada da Pós-graduação e Pesquisa**: CONGREGA URCAMP, Urcamp Bagé - Rs, v. 14, n. 14, p.1343-1351, 21 ago. 2017.

BHOJWANI, S. S., DANTU, P. K. Plant tissue culture: an introductory. Springer, 2013. 298.

BORGES, A. L.; SOUZA, L. da S. (Ed.). **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 279 p. Ciência e tecnologia para o desenvolvimento sustentável do sudoeste da Amazônia. Rio Branco: Embrapa Acre, 2009, v. 1, p. 253-290.

BORGES, A.L., SILVA, A.L., BATISTA, D.C., MOREIRA, F.R.B., FLORI, J.E., OLIVEIRA, J.E.M., ARAÚJO, J.L.P., PINTO, J.M., CASTRO, J.M.C., MOURA, M.S.B., AZOUBEL, P.M., CUNHA, T.J.F., SILVA, S.O., CORDEIRO, Z.J.M. **Sistema de Produção da Bananeira Irrigada.** Sistemas de Produção — Embrapa Semiárido. 2012. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/110622/1/Sistema-de-Producao-da-Bananeira-Irrigada.pdf>. Acesso em: 21 dez 2019.

CARVALHO, A. C.P. P.; RODRIGUES, A. A.J.; SANTOS, E. O. **Produção de Mudas Micropropagadas de Bananeira**. Fortaleza, CE, outubro, 2012.

CARVALHO, A.C.P.P., TORRES, A.C., BRAGA, E.A.B., LEMOS, E.E.P., SOUZA, F.V.D., PETER, J.A., WILLADINO, L., CÂMARA, T. R. 2011. Glossário de cultura de tecidos de plantas. **Plant cell culture e micropropagation**, 7:30-60.

CHERNYAD'EV, I.I. Ontogenetic Changes in the Photosynthetic Apparatus and Effects of Cytokinins (Review). 2000, **Applied Biochemistry and Microbiology** 36:527-539.

EMATER - Agência Goiana de Assistência Técnica, Extensão Rural e Pesquisa Agropecuária. **Banana: produtores querem equiparação como irrigantes**. Disponível em:http://www.emater.go.gov.br/w/5827>. Acesso em: 21 dez 2019.

- ERIG, A.C., SCHUCH, M.W. (2005) Micropropagação fotoautotrófica e uso da luz natural. **Ciência Rural**, 35 (4): 961-965.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Banana market review 2018.** ROME, 2019.
- FAO. Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura. **Banana: market review (Preliminary results for 2017).** Rome, 2017.
- FAO. Organização das Nações Unidas para Alimentação e a Agricultura. **Banana statistical compendium**, 2017. Disponivel em: http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM_MARKETS_MONITORING/Bananas/ Documents/Banana Statistical Compendium 2017.pdf. > Acesso em: 12 de nov de 2019.
- FAO. Organização das Nações Unidas para Alimentação e a Agricultura. **FAO prevê fortes perspectivas de crescimento para produção global e comércio de frutas tropicais,** 2019. Disponível em: http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/pt/c/1193684/>. Acesso em: 21 nov 2019.
- FARIA, Gláucia Amorim et al. Meio de cultura e tipo de explante no estabelecimento in vitro de espécies de maracujazeiro. **Bragantia**, [s.l.], v. 66, n. 4, p.535-543, 2007. FapUNIFESP.
- FERREIRA, M. E.; CALDAS, L. S.; PEREIRA, E.A. Aplicações da cultura de tecidos no melhoramento genético de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa- SPI: Embrapa- CNPH, 1998. p. 21-44
- FILHO, H.M. **Metodologia para estudo das relações de mercado em sistemas agroindustriais** Brasília: IICA, 2008. Disponível em:< http://www.iica.int>. Acesso em 12 de nov de 2018.
- FINANCIAL TRIBUNE: First Iranian English Economic Daily. 2015. **Micropropagation: from laboratory to market.** Disponível em: https://financialtribune.com/articles/economy-business-and markets/17287/micropropagation-from-laboratory-to-market >.Acesso em: 30 nov. 2019.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. 1998. Micropropagação, p. 183-260. In: Torres, A. C.; Caldas, L. S.; Buso, J. A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas, v. 1.
- IBGE. **Banco de Dados Agregados 2013**, Pesquisas, Produção Agrícola Municipal. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam_2013_v43_br.pdf. Acesso em: 30 de nov. de 2019.
- IBGE. **Censo agropecuário e produção agrícola nacional**. 2018. Disponível em: https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618#resultado. Acesso em: 20 de nov de 2019.
- IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática. 2018 Sidra. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Disponível em: http://www.ibge.gov.br. Acesso em: 07 de nov. de 2019.

KIROGO, V. (2006). Nutritive value health benefits and selected recipe of sweet potato, Banana. Soya beans and Grain Amaranth: Ministry of Agriculture Livestock and Fisheries, Nairobi, Kenya.

Lichtemberg, L. A.; Lichtemberg, P. S. F. Avanços na bananicultura brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v.33, p.29-36, 2011.

LICHTEMBERG, L. A.: LICHTEMBERG, P. DOS S. F. Avanços na bananicultura brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, São Paulo, v. especial, p.29-36, 2011.

MANICA, I. Fruticultura tropical: banana. Porto Alegre: Cinco Continente, 1997. 485p.

MARTINS, A. N.; SUGUINO, E.; DIAS, N. M. S.; PERDONÁ, M. J. Adição de torta de mamona em substratos na aclimatação de mudas micropropagadas de bananeira. **Rev. Bras. Frutic.** Jaboticabal, v. 33, n. 1, p. 198-207, Mar. 2011.

MEDEIROS, Dilnei Souza. TAXA DE MULTIPLICAÇÃO DE MUDAS MICROPROPAGADAS DE BANANEIRA CV. GRANDE NAINE E CV. PRATA CATARINA INFLUENCIADA PELA FASE DE ESTABELECIMENTO DE CULTURA. 2015. 119 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

MOREIRA, R. S. **Banana: teoria e prática de cultivo.** 2. ed. São Paulo: Fundação Cargill, 1999. CD.

MOREIRA, R.S. **Banana: teoria e prática de cultivo**. Campinas: Fundação Cargil, 1987. 335 p.

NAKAYAMA, L. H. I. Alternativas para Propagação das Mudas Sadias de Bananeiras (Musa spp). 6. ed. Belém Pa: Ceplac, 2012. Disponível em: . Acesso em: 1 nov. 2013. Njue, N. I. Identity, abundance and management of banana Thrips in Embu County, Kenya. **Master of Science Thesis**, 2015. University of Nairobi.

NOMURA, E. S.; FUZITANI, E. J. Propagação de bananeira. In: REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 13., 2005, Registro. **Anais de São Paulo : Instituto Biológico**, 2005. p. 59-65, 2005.

NOMURA, E.S.; LIMA, J.D.; RODRIGUES, D.S.; GARCIA, V.A.; FUZITANI, E.J. Influência do substrato e do tipo de fertilizante na aclimatização de mudas de bananeira 'Prata-Anã'. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 3, p. 773-779. 2009.

OLIVEIRA, L. S., DIAS, P. C., BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. **Pesquisa Florestal Brasileira**. 2013, 33: 439 – 453.

PEREIRA, G.A., CORREA, L.S., BOLIANI, A.C. 2011. Desinfestação e estabelecimento in vitro de explantes de bananeira 'Grande naine' em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. **Rev. Brasileira de Fruticultura**. Edição Especial: 222-226.

PEREIRA, Gustavo Alves; BOLIANI, Aparecida Conceição; CORREA, Luiz Souza. Desinfestação e estabelecimento in vitro de explantes de bananeira 'Thap maeo' (sub grupo

- AAB) submetidos a concentrações de cloro ativo. **Comunicata Scientiae**, [s.l.], v. 6, n. 4, p.412-417, 29 dez. 2015. Lepidus Tecnologia.
- PEREIRA, GUSTAVO ALVES; CORRÊA, LUIZ DE SOUZA; BOLIANI, Aparecida Conceição. Desinfestação e estabelecimento in vitro de explantes de bananeira 'Grande Naine' em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v. 33, n. 1, p.222-226, out. 2011.
- PEREZ, Luís Henrique; MAZZEI, Antônio Roger; ALVES, Humberto Sebastião. Sazonalidade dos preços e quantidade comercializada de banana nanica climatizada, em São Paulo, 1994 2000. **Informações Econômicas**, SP, v.31, n.11, nov. 2001. Disponível em: http://www.iea.sp.gov.br/ftpiea/ie/2001/TEC4-NOV-2001.pdf>. Acesso em: 11 de nov 2019.
- PIZA, I. M. de T. PINHO, R. S. **Protocolo de micropropagação da mandioca**. In: CAGNON, J. R.; CEREDA, M. P.; PANTAROTTO, S. In CULTURA de tuberosas amiláceas latino-americanas. Campinas: Fundação Cargill, 2002. (Série cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas, 2).
- RAMOS, D. P., LEONEL, S., MISCHAN, M. M., JÚNIOR, E. R. D. (2009) Avaliação de Genótipos de Bananeira em Botucatu, São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal SP, v. 31, n. 4, p. 1092-1101.
- REGUEIRA, M.; RIAL, E.; BLANCO, B.; BOGO, B.; ALDREY, A.; CORREA, B.; VARAS, E.; SÁNCHEZ, C.; VIDAL, N. Micropropagation of axillary shoots of Salix vitaminalis using a temporary immersion system. **Trees**, Spain v. 32, n. 1, p. 61-71,2018.
- RESMI, L.; NAIR, A. S. Differential effect of cytokinins in the micropropagation of diploid and triploid Musa cultivars. **International Journal of Integrative Biology**, v. 11, n.1, p. 35-38, 2011.
- 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**, v. 82, n. 1, p. 57-66, 2005.
- SAGRIMA. **Perfil da Agricultura Maranhense.** Dezembro/2016. Disponivel em: http://www.ma.gov.br/agenciadenoticias/wp-content/uploads/2017/01/perfil-da-agricultura-maranhense-1.pdf>. Acesso em: 30 de Nov. de 2019.
- SANTOS, P. C dos.; FREITAS, S. de J.; FREITAS, M. S. M.; SOUSA, L. B.; CARVALHO, A. J. C. de. Produção de mudas do tipo rebentão, utilizando coroas de três cultivares de abacaxi inoculadas com fungos micorrízicos. **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal** SP, v. 33, p. 954-961, 2011.
- 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.

SILVA, O. S., Serejo, S.A.J., Cordeiro, M.J.Z., **O cultivo da bananeira**, Emprapa, cruz das almas – BA, 2004.

SILVA, S.O.; SOUZA JR, M.T.; ALVES., E.J.; SIILVEIRA, J.R.S.; LIMA, M. B. Banana breeding program at Embrapa Mandioca e Fruticultura. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 4, p. 399-436, December, 2001.

SIMMONDS, N.W.; SHEPHERD, K. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. **The Journal of the Linnean Society of London**, London, v.55, p.302- -312, 1955.

SINGH, H. P.; SELVARAJAN, S. U.; KARIHALOO, J. L. Micropropagation for production of quality banana planting material in Asia-Pacific. Nova Delli: APCoAB/APAARI, 2011, 94p.

SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Fruticultura: Cenários e projeções estratégicas**, 2016. 30p. Disponível em:<www.sebraemercados.com.br/fruticultura>. Acesso em: 02 dez. 2019.

SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Agronegócio: fruticultura**. Boletim de Inteligência, 2015. 5p. Disponível em: www.sebraemercados.com.br/fruticultura. Acesso em: 02 dez. 2019.

SHUKLA, S. K.; SHARMA, P.; SWARUP, R. Impact of national certification system for tissue culture raised plants (ncs-tcp) on Indian plant tissue culture industry: a unique quality management system for commercial plant tissue culture. **Journal of Biotechnology & Biomaterials**, v. 2, p. 6-58, 2012.

SILVA, E.A.; BOLIANI, A.C.; CORRÊA, L.S. 2006. Evaluation of banana (Musa sp) cultivars in Selvíria-MS region, **Rev. Brasileira de Fruticultura**, 28: 101-103.

SILVESTRI, C.; SABBATINI, G.; MARANGELLI, F.; RUGINI, E.; CRISTOFORI, V. Micropropagation ande ex vitro rooting of wolfberry. **HortScience**. [S.l.] v. 53, n. 10, p. 1494-1499, 2018.

SOTO BALLESTERO, M. **Bananos: cultivo y comercialización**. 2.ed. San José: Imprenta Lil, 1992. 674 p.

CORDEIRO, Z.J.M (Org.). **Banana. Produção: aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000, p. 39-46.

SOUZA, A. S. et al. **Introdução à Micropropagação de Plantas**. 1. ed. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006, 152 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017, 888 p.

TUMUHIMBISE, R; TALENGERA, D.. Improved Propagation Techniques to Enhance the Productivity of Banana (Musa spp). **Open Agriculture**, 2018, 3(1) 138-145.

TULMANN NETO, A. et al. Metodologia in vivo visando a indução de mutações no melhoramento de bananeira Maçã. Rev. Bras. Genét., Ribeirão Preto, v. 12, n. 4, p.871-879, 1989.

WAMAN, A.A., BOHRA, P., SATHYANARAYANA, B.N., GOURISH, R.K., ASHOK, T.H. Micropropagules can profitably save the choicest Silk banana from extinction. **Biological Science**, 2014, 84: 847-854.

ZILTON JOSÉ MACIEL CORDEIRO (Brasilia). Embrapa Comunicação Para Transferência de Tecnologia (Org.). **BANANA:** Fitossanidade. Distrito Federal: Embrapa Informação Tecnológica, 2000. 119 p.