# Produção de mudas de bananeira no Brasil: alta qualidade genética e fitossanitária















## Governador do Estado Carlos Moisés da Silva

## Secretário de Estado da Agricultura e da Pesca Ricardo de Gouvêa

Presidente da Epagri Edilene Steinwandter

## **Diretores**

Giovani Canola Teixeira Administração e Finanças

Humberto Bicca Neto Extensão Rural e Pesqueira

Ivan Luiz Zilli Bacic

Desenvolvimento Institucional

Vagner Miranda Portes Ciência, Tecnologia e Inovação



## **BOLETIM TÉCNICO № 187**

## Produção de mudas de bananeira no Brasil: alta qualidade genética e fitossanitária



Florianópolis 2019 Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri)

Rodovia Admar Gonzaga, 1347, Itacorubi, Caixa Postal 502

88034-901 Florianópolis, SC, Brasil

Fone: (48) 3665-5000, fax: (48) 3665-5010

Site: www.epagri.sc.gov.br

Editado pelo Departamento Estadual de Marketing e Comunicação (DEMC) / Epagri

Assessoria técnico-científica: Augusto Tulmann Neto – USP

Edson Perito Amorim – Embrapa Miguel Pedro Guerra – UFSC

Editoração técnica: Paulo Sergio Tagliari, Luiz Augusto Martins Peruch

Revisão textual: Laertes Rebelo

Tikinet

Arte final: Victor Berretta

Fotos da capa: à esquerda, mudas no campo; à direita, de cima para baixo, viveiro de matrizes, preparação de explantes para cultivo *in vitro* e sala de produção de mudas *in vitro*.

Primeira edição: junho 2019 Impressão: Gráfica CS Tiragem: 500 exemplares

É permitida a reprodução parcial deste trabalho desde que a fonte seja citada.

## Ficha catalográfica

SCHERER, R.F. (Org.) **Produção de mudas de bananeira no Brasil – alta qualidade genética e fitossanitária**. Florianópolis: Epagri, 2019. 40p. (Epagri. Boletim Técnico, 187)

*Musa* spp; Plantas matrizes; Plantas Básicas; Fornecimento de explantes; Micropropagação.

ISSN 0100-7416

0

## **AUTORES**

## Ramon Felipe Scherer (Organizador)

Engenheiro-agrônomo, Dr.
Epagri, Estação Experimental de Itajaí
Rodovia Antônio Heil, 6800, Caixa Postal 277
Itajaí, SC
(47) 3398-6347
ramonscherer@epagri.sc.gov.br

## Alexander de Andrade

Engenheiro-agrônomo, Dr.
Epagri, Estação Experimental de Itajaí
Rodovia Antônio Heil, 6800, Caixa Postal 277
Itajaí, SC
(47) 3398-6313
alexanderandrade@epagri.sc.gov.br

## André Boldrin Beltrame

Engenheiro-agrônomo, Dr.
Epagri, Estação Experimental de Itajaí
Rodovia Antônio Heil, 6800, Caixa Postal 277
Itajaí, SC
(47) 3398-6348
andrebeltrame@epagri.sc.gov.br

## Gelton Geraldo Fernandes Guimarães

Engenheiro-agrônomo, Dr.
Epagri, Estação Experimental de Itajaí
Rodovia Antônio Heil, 6800, Caixa Postal 277
Itajaí, SC
(47) 3398-6365
geltonguimaraes@epagri.sc.gov.br.

## **Gustavo Henrique Ferrero Klabunde**

Engenheiro-agrônomo, Dr.

Epagri, Estação Experimental de Itajaí

Rodovia Antônio Heil, 6800, Caixa Postal 277

Itajaí, SC

(47) 3398-6366

gustavoklabunde@epagri.sc.gov.br

## Luana Aparecida Castilho Maro

Engenheira-agrônoma, Dra.

Epagri, Estação Experimental de Itajaí

Rodovia Antônio Heil, 6800, Caixa Postal 277

Itajaí, SC

(47) 3398-6352

luanamaro@epagri.sc.gov.br

## **Luiz Augusto Martins Peruch**

Engenheiro-agrônomo, Dr.

Epagri, Departamento Estadual de Marketing e Comunicação

Rodovia Admar Gonzaga, 1347, Caixa Postal 502

Florianópolis, SC

(48) 3665-5175

lamperuch@epagri.sc.gov.br

## Marcelo Mendes de Haro

Engenheiro-agrônomo, Dr.

Epagri, Estação Experimental de Itajaí

Rodovia Antônio Heil, 6800, Caixa Postal 277

Itajaí, SC

(47) 3398-6321

marceloharo@epagri.sc.gov.br

## Márcio Sônego

Engenheiro-agrônomo, Dr.
Epagri, Estação Experimental de Urussanga
Rodovia SC 108, Km 16, Caixa Postal 49
Urussanga, SC
(48) 3403-1369
sonego@epagri.sc.gov.br

## Ricardo José Zimmermann de Negreiros

Engenheiro-agrônomo, M.Sc.
Epagri, Estação Experimental de Itajaí
Rodovia Antônio Heil, 6800, Caixa Postal 277
Itajaí, SC
(47) 3398-6360
ricardo@epagri.sc.gov.br

## **APRESENTAÇÃO**

A banana é uma fruta de grande importância econômica e social no mundo, sendo fonte de alimento e renda para milhões de pessoas. O Brasil é um dos principais produtores mundiais e o estado de Santa Catarina está entre os quatro maiores produtores nacionais.

O aumento da qualidade e da quantidade da produção dessa fruta passa essencialmente pela utilização de mudas de alta qualidade genética e fitossanitária. Assim, a manutenção das características genotípicas e fenotípicas dos principais cultivares comerciais, o fornecimento de explantes de alta qualidade genética e fitossanitária para empresas que produzem mudas de bananeira e a utilização de protocolos eficientes para a micropropagação de mudas em larga escala estão na base da cadeia produtiva.

Desta forma, a Epagri publica este documento técnico visando informar bananicultores, técnicos e empresas de produção de mudas sobre a produção de propágulos de bananeira no Brasil.

A Diretoria Executiva

## SUMÁRIO

| 1 Considerações iniciais  | 11 |
|---|----|
| 1.1 Aspectos gerais   | 11 |
| 1.2 Origem  | 11 |
| 1.3 Jardins clonais   | 12 |
| 1.4 Micropropagação de bananeira  | 13 |
| 2 Metodologias sugeridas  | 14 |
| 2.1 Formação de jardins clonais de plantas matrizes, de jardins clonais |    |
| de plantas básicas e de campos de plantas fornecedoras de material      |    |
| de propagação sem origem genética comprovada em campo                   | 14 |
| 2.2 Formação de jardins clonais de plantas fornecedoras de explantes e  |    |
| de campos de plantas fornecedoras de material de propagação sem         |    |
| origem genética comprovada em ambientes protegidos                      | 17 |
| 2.3 Micropropagação   |    |
| 2.3.1 Seleção de touceira, coleta e pré-desinfestação de explantes      |    |
| 2.3.2 Assepsia e fase de estabelecimento <i>in vitro</i>                |    |
| 2.3.3 Fase de multiplicação in vitro                                    |    |
| 2.3.4 Fase de crescimento e enraizamento de brotos <i>in vitro</i>      | 26 |
| 2.3.5 Fase de aclimatização   | 27 |
| 2.3.6 Fase de crescimento e formação de mudas                           | 27 |
| 2.3.7 Comercialização das mudas   | 30 |
| 3 Instruções para o bananicultor  | 33 |
| 3.1 Compra de mudas   |    |
| 3.1.1 Sistema fechado   | 33 |
| 3.1.2 Sistema aberto  | 34 |
| 3.2 Plantio das mudas em campo  | 34 |
| 3.3 Esclarecimento de dúvidas   | 35 |
| 4 Considerações finais  | 35 |
| 5 Agradecimentos  | 36 |
| Referências   | 36 |

## 1 Considerações iniciais

## 1.1 Aspectos gerais

O mercado mundial de frutas movimenta expressivos valores monetários, sendo a banana uma das frutas mais comercializadas em escala global ano após ano. Em 2017, a produção de bananas de mesa e plátanos (bananas para cozinhar) totalizou 153 milhões de toneladas, posicionando-a como a fruta mais produzida no mundo (FAO, 2019). Desde a década de 60 a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), na sigla em inglês, acompanha a produção de banana no mundo. Desde que este acompanhamento iniciou o Brasil sempre esteve entre os maiores produtores mundiais da fruta. Nesse sentido, em 2017, o país foi responsável por cerca de 4,5% da produção global, colhendo 6,7 milhões de toneladas numa área plantada de 465 mil hectares, o que o caracteriza como sétimo maior produtor, quando se leva em conta a soma da produção de bananas e plátanos (FAO, 2019). Por sua vez, Santa Catarina está há décadas entre os cinco principais estados produtores de banana do país (Souza et al. 1995; Sebrae 2008; Goulart Junior et al., 2017). Na safra de 2016 o estado alcançou a guarta maior produção nacional, com cerca de 10% do total, comercializando aproximadamente 562 mil toneladas colhidas em 28.474,3 ha (IBGE, 2018). O estado catarinense possui duas grandes regiões produtoras de banana, o litoral norte, responsável por produzir mais de 90% da produção estadual, onde se destacam os cultivares do subgrupo Cavendish; e o litoral sul, responsável pela produção de cerca de 6,5%, que se destaca na produção de cultivares do subgrupo Prata (Síntese anual da agricultura de Santa Catarina, 2016).

## 1.2 Origem

A bananeira (*Musa* spp.) é originária do sudeste asiático e o início de sua domesticação ocorreu por volta de 11.700 anos atrás, sendo posteriormente dispersada ao redor do mundo (Perrier et al. 2011). No continente americano ela foi introduzida oficialmente no ano de 1516, na ilha de São Domingos, América Central (Souza et al., 1995), apesar de hipóteses defenderem que algumas variedades desta fruta já se encontravam nas Américas antes do primeiro contato oficial entre o continente e europeus em 1492 (Langdon, 1993). Os principais

genótipos comerciais são derivados da espécie *M. acuminata* (genoma A) ou de híbridos entre *M. acuminata* e *M. balbisiana* (genoma B) (Perrier et al. 2011), apresentando as seguintes constituições genômicas: AA, AB, AAA, AAAA, AAB, ABB, AABB e AAAB (Li-Fen et al., 2013; Simmonds e Shepherd, 1955; Daniells e Bryde, 2001). Nesse sentido, há dois grandes subgrupos de cultivares de banana que se destacam nos plantios no Brasil, cultivares do subgrupo Cavendish (AAA) e cultivares do subgrupo Prata (AAB) (Nascimento Junior et al. 2008). Porém, variedades do subgrupo Terra (AAB), Maçã (AAB), Figo (ABB), cultivares recentes, como BRS SCS Belluna (AAA) e cultivares tetraploides, como BRS Tropical (AAAB), BRS Princesa (AAAB), BRS Platina (AAAB), BRS Pacoua (AAAB), FHIA 01 (AAAB), entre outros, também apresentam demandas de mudas para produção.

## 1.3 Jardins clonais

Uma das medidas essenciais a ser adotada na implantação ou renovação de um bananal é a utilização de mudas com alta qualidade genética e fitossanitária. Além das características genotípicas e fenotípicas de cada cultivar, a alta qualidade genética também está relacionada com a pureza genética de cada lote comercializado. De acordo com a Lei Federal nº 10.711/2003 (BRASIL, 2003) e seu regulamento (Decreto Federal nº 5.153 de 2004) (BRASIL, 2004), que dispõem sobre o sistema nacional de sementes e mudas e que tem por objetivo garantir a identidade e a qualidade do material de multiplicação e de reprodução vegetal produzido, comercializado e utilizado em todo o território nacional: todo cultivar deve ser claramente distinguível de outros cultivares por margem mínima de descritores e por sua denominação própria, deve ser homogêneo e estável em relação aos descritores no decorrer de gerações sucessivas e deve ser passível de uso pelo complexo agroflorestal nacional, além de ser descrito em alguma publicação especializada e acessível ao público. Por sua vez, de acordo com a Instrução Normativa do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento nº 24 de 16 de dezembro de 2005 (IN MAPA 24/2005) (BRASIL, 2005a), jardim clonal é o conjunto de plantas matrizes ou básicas destinado a fornecer material de multiplicação de determinado cultivar.

Porém, toda muda de bananeira comercializada, quer seja ela produzida por métodos convencionais ou através da propagação *in vitro*, deve estar livre

de espécies do vírus da estria da bananeira (Banana streak virus - BSV), família Caulimoviridae, gênero Badnavirus e do vírus do mosaico do pepino (Cucumber mosaic virus - CMV), família Bromoviridae, gênero Cucumovirus (BRASIL, 2010), causadores da estria e do mosaico da bananeira, respectivamente; da Ralstonia solanacearum raca 2, agente causal do Moko da bananeira (BRASIL, 2009); e da Mycosphaerella fijiensis, agente causal da Sigatoka negra (BRASIL, 2005b). Além dessas doenças, que são regulamentadas por instruções normativas específicas, é estritamente recomendado que as mudas comercializadas de Musa spp. também estejam isentas de qualquer outra praga da bananicultura. Desta forma, na cadeia produtiva da banana, jardins clonais de plantas fornecedoras de explantes ou campos de plantas fornecedoras de material de propagação sem origem genética comprovada devem ser formados em ambientes protegidos para fornecer explantes às empresas produtoras de mudas que, por sua vez, podem os utilizar como matéria-prima para a produção de mudas de alta qualidade genética e fitossanitária em larga escala. Na bananicultura, a produção comercial de mudas de acordo com a legislação vigente tem sido realizada, normalmente, através da micropropagação em biofábricas.

Ressalta-se também que a observância das recomendações e sugestões deste boletim técnico contribuem para dificultar a entrada/dispersão de pragas quarentenária A1, como o *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raça 4 tropical.

## 1.4 Micropropagação de bananeira

A micropropagação, também chamada de cultura de tecidos ou multiplicação *in vitro*, é a técnica de cultivar, em meio nutritivo e condições ambientais controladas, células, tecidos ou órgãos isolados de um organismo, assim como indivíduos completos. Nesse sentido, de acordo com Diekmann e Putter (1996), a cultura de tecidos vegetais possibilita a produção clonal e em larga escala de mudas de bananeira isentas de pragas e doenças. O cultivo *in vitro* de microplantas de bananeira, desde a multiplicação *in vitro*, via organogênese, até a aclimatização em casa de vegetação, possibilita a obtenção de mudas livres de pragas e doenças em uma taxa regenerativa cerca de 10 a 30 vezes maior que a forma convencional de produção de mudas, sendo possível produzir uma média de 150 a 350 mudas em 6 a 8 meses por explante isolado, dependendo do genótipo (Medeiros, 2015; Santos-Serejo et al., 2009). Porém, no processo

de micropropagação podem ocorrer variações somaclonais, que são variações fenotípicas persistentes derivadas de variações genéticas e/ou epigenéticas (Smulders e de Klerk, 2011; Wang e Wang, 2012). O número excessivo de repicagens e/ou a utilização de altas concentrações de fitorreguladores do grupo das citocininas são fatores recorrentes que aumentam as taxas de variações somaclonais em microplantas de *Musa* spp. (Rodrigues et al. 1998; Bairu et al. 2006). De acordo com a legislação brasileira, todo lote comercializado de mudas micropropagadas de qualquer espécie tem o limite de 5% para ocorrências dessas variações (BRASIL, 2012).

A Epagri atuou na produção comercial de mudas micropropagadas de bananeira de 1994 a 2010, comercializando mudas no Brasil inteiro, tornando-se referência para outras biofábricas. Paralelamente, durante todo este período, a empresa também atuou na pesquisa científica relacionada com a micropropagação de *Musa* spp., muitas vezes em parceria com outras importantes instituições brasileiras (Medeiros, 2015; Zaffari e Kerbauy, 2010; Debiasi et al., 2003; Zaffari et al., 2002; Debiasi et al., 2002; Zaffari et al., 2000; Tcacenco et al., 2001; Salerno e Zaffari, 1999; Zaffari et al., 1998; Zaffari et al., 1994). Desta forma, esses anos de experiência, tanto na área de pesquisa quanto de produção comercial de mudas, permitem à Epagri recomendar um protocolo de produção de mudas de bananeira em larga escala.

## 2 Metodologias sugeridas

## 2.1 Formação de jardins clonais de plantas matrizes, de jardins clonais de plantas básicas e de campos de plantas fornecedoras de material de propagação sem origem genética comprovada em campo

De acordo com a Lei Federal nº 10.711/2003 (BRASIL, 2003), planta matriz é aquela que é fornecedora de material de propagação que mantém as características da planta básica da qual seja proveniente. Planta básica,

por sua vez, é aquela obtida pelo processo de melhoramento vegetal, sob a responsabilidade e o controle direto de seu obtentor ou introdutor.

Para a formação dos jardins clonais de plantas básicas, mudas devem ser propagadas naturalmente a partir das primeiras plantas básicas pela(s) instituição(ões) e/ou empresa(s) mantenedora(s) do cultivar. Para a formação dos jardins clonais de plantas matrizes, as mudas devem ser provenientes de plantas básicas ou jardins clonais de plantas básicas mantidas por alguma instituição ou empresa. Quando o cultivar não tiver plantas básicas ou matrizes mantidas por alguma instituição ou empresa, sugere-se a formação de campo de plantas fornecedoras de material de propagação sem origem genética comprovada. No Brasil, há cultivares de bananeira que não possuem nenhum mantenedor, como, por exemplo, os cultivares Ouro (AA) e Branca (AAB).

Em todos os casos, as plantas devem passar por um rigoroso processo de avaliação com base em técnicas e descritores internacionais (IPGRI-Inibap/Cirad) para garantir sua fitossanidade, qualidade e estabilidade genética, qualidades organolépticas e produtividade e, em seguida, os procedimentos requisitados à inscrição no Mapa devem ser realizados de acordo com a IN Mapa 24/2005 (BRASIL, 2005a).

A Estação Experimental de Itajaí (Epagri/EEI) mantém jardins clonais de plantas matrizes dos cultivares Prata Anã (AAB), Nanicão (AAA), Grande Naine (AAA) e Willians (AAA); e plantas básicas dos cultivares SCS451 Catarina (Prata Catarina) (AAB), SCS452 Corupá (Nanicão Corupá) (AAA) e BRS SCS Belluna (AAA) (Figura 1). Tanto os jardins clonais de plantas matrizes quanto as plantas básicas são manejados de acordo com as recomendações da Epagri para produção convencional da fruta (Livramento & Negreiros, 2016). Desta forma, estes pomares permitem que as características fenotípicas de cada cultivar sejam monitoradas e mantidas, assim como possibilitam a produção de mudas para a formação de jardins clonais de plantas fornecedoras de explantes ou de campo de plantas fornecedoras de material de propagação sem origem genética comprovada em ambientes protegidos.



Figura 1. Jardins clonais de plantas matrizes e de plantas básicas em campo. A)
Localização dos jardins clonais na Estação Experimental de Itajaí (26°57'18.502 S
48°46'0.202 O); Jardins clonais de plantas matrizes dos cultivares: B) Prata Anã; C)
Nanicão; D) Grande Naine; e E) Willians; Plantas básicas dos cultivares: F) SCS451
Catarina (Prata Catarina); G) SCS452 Corupá (Nanicão Corupá) e H) BRS SCS Belluna

## 2.2 Formação de jardins clonais de plantas fornecedoras de explantes e de campos de plantas fornecedoras de material de propagação sem origem genética comprovada em ambientes protegidos

Mudas provenientes de jardins clonais de plantas matrizes ou de plantas básicas sem sintomas de doenças ou presença de outras pragas devem ser selecionadas e em seguida coletadas e enviadas a um telado com proteção antiafídica para serem mantidas por um período de quarentena. Enquanto isso, amostras foliares das plantas doadoras destas mudas devem ser enviadas para a realização de diagnose de CMV e espécies de BSV (BRASIL, 2010). Em estados que têm a presença do Moko da bananeira, as mudas devem ser provenientes de Áreas Livres da Praga Ralstonia solanacearum raça 2 (BRASIL, 2009). Como Santa Catarina é um estado sem a presença deste micro-organismo, todo o seu território é reconhecido como Área Livre da Praga Ralstonia solanacearum raça 2 (BRASIL, 2013). As diagnoses citadas na IN Mapa 46/2010 (BRASIL, 2010), relacionadas ao BSV e ao CMV, devem ser feitas em laboratórios credenciados pelo Mapa e as plantas devem apresentar laudos comprovando a não infecção das mesmas. É possível consultar os escopos dos laboratórios credenciados pelo Mapa no site: http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/rede-nacionalde-laboratorios-agropecuarios/diagnostico-fitossanitario

Por fim, as plantas que estiverem isentas de pragas devem ser transferidas da quarentena para o jardim clonal de plantas fornecedoras de explantes (Figura 2).

Recomenda-se que nos jardins clonais de plantas fornecedoras de explantes as touceiras de plantas sejam manejadas de forma diferenciada, uma vez que o objetivo nesses casos é a produção de mudas. Isso impede o monitoramento das características fenotípicas de cada cultivar. Dessa forma, para garantir a qualidade genética dos explantes, recomenda-se também a renovação das touceiras de plantas fornecedoras de explantes a cada três anos. Este é o tempo de validade de cada laudo de limpeza viral (BRASIL, 2010) e da inscrição de jardins clonais de plantas fornecedoras de explantes (BRASIL, 2012). Ao se proceder dessa forma, cumpre-se o tempo de validade das indexações virais e das inscrições de jardins clonais, uma vez que a renovação se dá através do mesmo procedimento descrito na Figura 2.

No momento, a Epagri conta com duas estufas agrícolas que abrigam jardins



F) Mudas de bananeira durante quarentena em estufa agrícola protegida com tela antiafídica; G) Confirmação da limpeza viral das amostras; H) Estufa Figura 2. Formação de jardim clonal de plantas fornecedoras de explantes. A) Seleção da planta em jardim clonal em campo; B) Coleta de rizoma em plantas selecionadas; C-D) Limpeza das mudas coletadas; E) Estufa agrícola protegida de insetos vetores de doenças para o período de quarentena; agrícola protegida com tela antiafídica utilizada para abrigar jardins clonais de plantas fornecedoras de explantes; I) Formação de jardins clonais de plantas fornecedoras de explantes

clonais de plantas fornecedoras de explantes dos cultivares: Grande Naine, Prata Catarina, BRS SCS Belluna e Nanicão Corupá (Figura 3).

As principais recomendações diferenciadas para o manejo do jardim clonal de plantas fornecedoras de explantes são:

- menor espaçamento entre plantas;
- uso de fertilizantes com baixo índice de salinidade, principalmente na fonte de potássio;
  - uso de irrigação sob copa, de preferência microaspersão;
  - corte de pseudocaules e quebra de dominância apical na touceira.

Observação: Para a formação de campo de plantas de material de propagação sem origem genética comprovada em ambiente protegido com telas antiafídicas os procedimentos são os mesmos recomendados para os jardins clonais de plantas fornecedoras de explantes, diferindo apenas na origem das plantas, que devem ser provenientes de campo de plantas ou de planta fornecedora de material de propagação sem origem genética comprovada em campo.

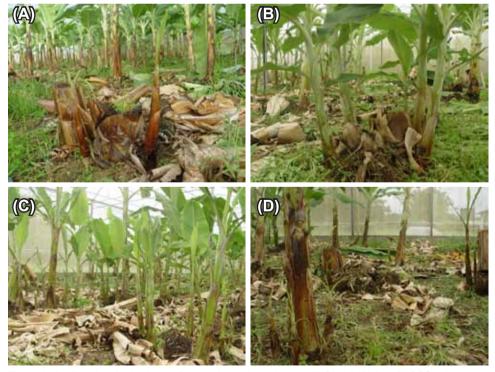


Figura 3. Jardins clonais de plantas fornecedoras de explantes. A) Grande Naine; B) SCS451 Catarina (Prata Catarina); C) BRS SCS Belluna; D) SCS452 Corupá (Nanicão Corupá)

## 2.3 Micropropagação

## 2.3.1 Seleção de touceira, coleta e pré-desinfestação de explantes

Inicialmente, realiza-se a seleção de touceiras e a coleta de mudas, preferencialmente em jardim clonal de plantas fornecedoras de explantes. Os procedimentos da pré-desinfestação de explantes consistem na remoção das raízes e partes escurecidas do córtex, lavagem em água corrente e redução das mudas para blocos retangulares com dimensões aproximadas de 5cm de altura, 5cm de largura e 10cm de comprimento (5,0x5,0x10 cm), tendo o meristema apical em seu centro. Em seguida, os explantes devem ser submersos por um período de 12 a 14 horas em solução aquosa de hipoclorito de sódio na concentração de 0,5%. Os explantes devem então ser encaminhados para laboratório onde serão reduzidos a blocos retangulares com dimensões aproximadas de 2,5x2,5x5,0 cm (altura:largura:comprimento), mantendo o meristema apical em seu centro, e submersos em solução aquosa de hipoclorito de sódio na concentração de 1,0% durante 60 minutos (Figura 4). Em seguida, os explantes devem ser submetidos ao processo de assepsia.

## 2.3.2 Assepsia e fase de estabelecimento in vitro

Em câmara de fluxo laminar, os explantes devem ser submersos em solução de etanol na concentração de 70% por 5 minutos, seguido por imersão em solução aquosa de hipoclorito de sódio na concentração de 1,0% durante 30 minutos e, por fim, os explantes devem ser lavados três vezes em água destilada e esterilizada. Após estes procedimentos os explantes devem ser finalmente reduzidos ao tamanho de 1,0x1,0x2,0cm (altura:largura:comprimento), mantendo o meristema apical no centro, e inoculados em frascos de vidro (40 x 100mm, volume de 100mL) contendo 15mL do meio de cultura constituído pelos sais e vitaminas MS (Murashige e Skoog, 1962), 30g.L-¹ de sacarose (30g.L-¹), 1mg.L-¹ de ANA e 1mg.L-¹ de BAP, sendo que o pH é ajustado para 5,8 ± 0,05 e, em seguida, adiciona-se o agente gelificante ágar-ágar (6,5g.L-¹) antes da esterilização em autoclave por 17 minutos a 1,1atm e 121°C. Recomenda-se que nesta e nas fases seguintes, independentemente do tipo de frasco utilizado, seja utilizada uma altura

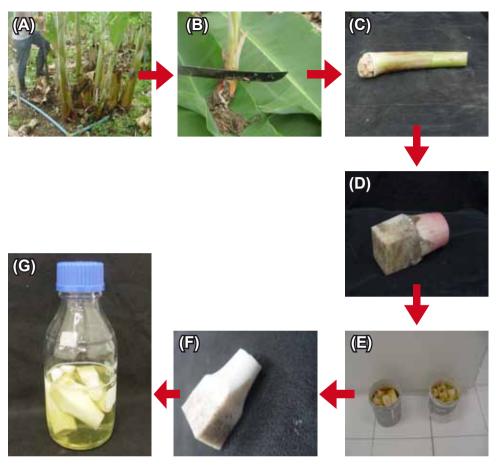


Figura 4. Seleção de touceira e pré-desinfestação de explante. A) Seleção da touceira e coleta de explante; B) Limpeza inicial do explante - retirada de raízes e pedaços de tecidos mortos; C) Explante após limpeza inicial; D) Explante reduzido para dimensões iniciais (5,0x5,0x10cm), mantendo o meristema apical no centro; E) Pré-assepsia - 12 a 14h em 0,5% hipoclorito de sódio; F) Segunda redução dos explantes (2,5x2,5x5,0cm), mantendo o meristema apical em seu centro; G) Segunda pré-assepsia, 1h em 1% hipoclorito de sódio

de coluna de meio de cultura de, pelo menos, 1,5cm. Cada explante é inoculado em um frasco, em câmara de fluxo laminar, que em seguida é transferido à sala de crescimento com condições de luminosidade e temperatura controladas. A temperatura é estabelecida em 25  $\pm$  2°C e o fotoperíodo em 16 horas de luz, a uma intensidade luminosa de 10W.m-² (Figura 5). Os frascos permanecem por um período entre 45 e 60 dias nesta fase, sendo os 10 primeiros dias na ausência de luz e os restantes nas condições luminosas da sala de crescimento.

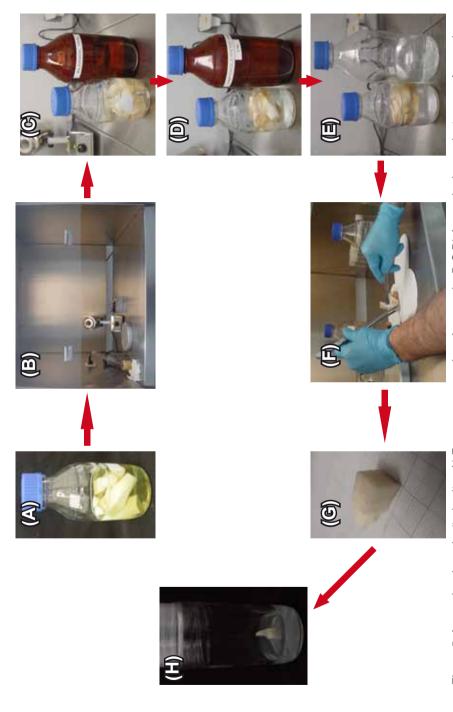
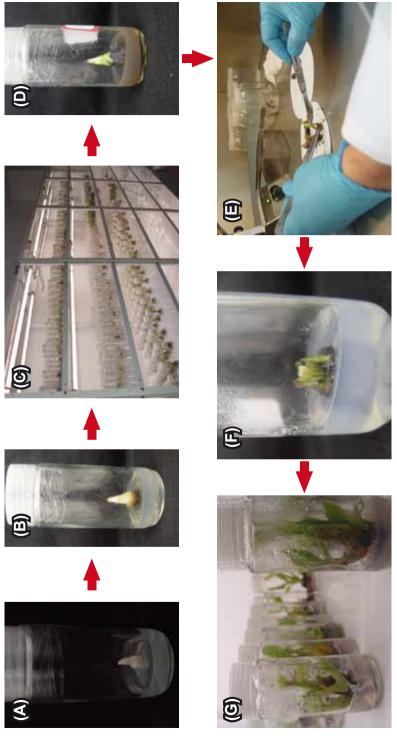


Figura 5. Assepsia e inoculação in vitro. A) Frasco na segunda pré-assepsia; B,C,D) Assepsia dos explantes em câmara de fluxo laminar; E) Tríplice lavagem dos explantes com água destilada esterilizada; F) Redução final de explante; G) Explante após redução final para dimensões de 1,0x1,0x2,0cm; H) Explante inoculado in vitro

## 2.3.3 Fase de multiplicação in vitro

Ao final da fase de estabelecimento *in vitro* cada explante deve receber cortes parciais longitudinais, em forma de "x" ou cortes paralelos, visando atingir o meristema apical e, com isso, quebrar sua dominância sem dividir o explante. Nesse momento, também devem ser realizadas raspagens nos tecidos oxidados do rizoma, visando facilitar o contato entre as células vivas do rizoma e o meio de cultura. Em seguida, cada broto deve ser transferido para um frasco de vidro (40x100mm, volume de 100mL) contendo 15mL do meio de cultura de multiplicação *in vitro* para se desenvolverem por quatro semanas nas condições controladas da sala de crescimento (Figura 6). O meio de cultura de multiplicação é constituído pelos sais e vitaminas MS (Murashige e Skoog, 1962), 30g.L-1 de sacarose, 2,5mg.L-1 de BAP, 6,5g.L-1 de ágar-ágar e com pH e procedimento de esterilização iguais aos utilizados na preparação do meio de cultura anterior.

Após quatro semanas, as brotações com alturas superiores a 2,0cm devem ser individualizadas e as menores deixadas em grupos de até quatro brotos. Para as brotações com altura superior a 2,0cm realiza-se a eliminação da parte superior do pseudocaule a partir de 1,5cm de altura e realizam-se cortes parciais longitudinais, do topo para a base, visando atingir a gema apical e, com isso, quebrar sua dominância sem dividir o broto. Em seguida, brotos individualizados ou conjuntos de até quatro brotos menores que 2,0cm, ambos considerados uma unidade de brotação cada, devem ser transferidos para a segunda repicagem em frascos de vidro (60x110mm, volume de 218mL) contendo 30mL do meio de cultura de multiplicação in vitro. Em cada frasco devem ser inoculadas cinco unidades de brotações, que devem se desenvolver por quatro semanas nas condições controladas da sala de crescimento. Ao final desse período as unidades de brotações devem ser repicadas para novos frascos usando os mesmos procedimentos de instalação e condução do segundo subcultivo e, assim por diante, até o final da quinta repicagem (Figura 7). Ao fim do quinto subcultivo, os brotos devem ser transferidos para a fase de crescimento.



vitro - limpeza de partes oxidadas e realização de cortes longitudinais parciais visando a quebra da dominância apical; F) Explante no início do primeiro Figura 6. Primeiro subcultivo da fase de multiplicação in vitro. A) Explante recém-inoculado na fase de estabelecimento in vitro; B) Explante após 10 dias da inoculação; C) Sala de crescimento de plantas micropropagadas; D) Explante após 60 dias da inoculação *in vitro*; E) Primeiro subcultivo *in* subcultivo; G) Brotos ao final do primeiro subcultivo (4 semanas)

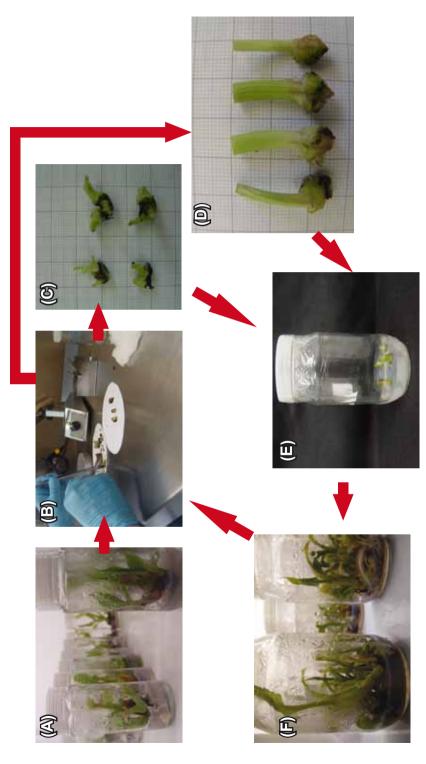


Figura 7. Fase de multiplicação in vitro a partir do 2º subcultivo. A) Brotos ao final do primeiro subcultivo (4 semanas); B) Repicagem in vitro - seleção e manejo de unidades de brotações; C) Unidades de brotações constituídas de até 4 brotos menores que 2,0cm; D) Unidades de brotações constituídas de brotos individuais maiores que 2,0cm, com cortes visando a quebra da dominância apical; E) Frascos de multiplicação com unidades de brotações recém-inoculadas; F) Frascos de multiplicação após 4 semanas da inoculação

## 2.3.4 Fase de crescimento e enraizamento de brotos in vitro

Os brotos devem ser individualizados e transferidos para frascos de vidro (60x110mm, volume de 218mL) contendo 30mL do meio de cultura de crescimento/ enraizamento, constituído pela metade das concentrações dos sais MS, vitaminas MS e 30g L<sup>-1</sup> de sacarose, tendo pH e procedimento de esterilização iguais aos meios de cultura anteriores. Em cada frasco devem ser inoculados de cinco a dez brotos individualizados (dependendo do tamanho), que se desenvolverão por quatro ou cinco semanas nas condições controladas da sala de crescimento (Figura 8). Ao final desta etapa, os brotos devem ser enviados para a fase de aclimatização.

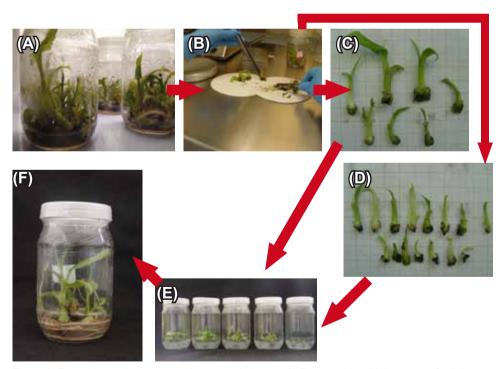


Figura 8. Fase de crescimento e enraizamento de brotos. A) Frascos de multiplicação ao final do 5º subcultivo; B) Individualização de brotos em câmara de fluxo laminar; C-D) Brotos individualizados; E) Frascos com brotos no início da fase de crescimento; F) Frasco com brotos após 4 semanas na fase de crescimento

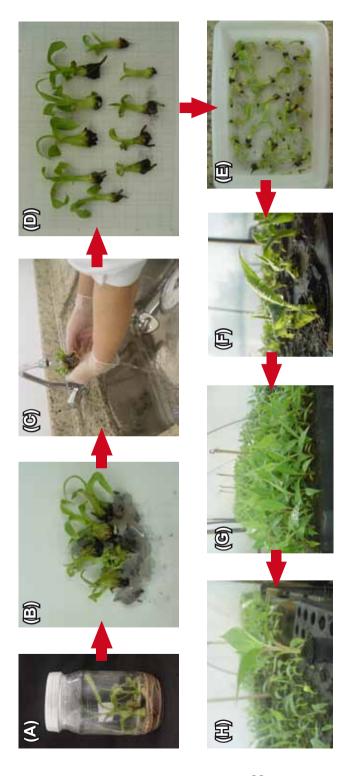
## 2.3.5 Fase de aclimatização

Os brotos devem ser retirados cuidadosamente dos frascos e, em seguida, as raízes de cada broto devem ser cortadas próximas ao rizoma, cerca de 0,5cm, e os brotos devem ser lavados em água corrente. O objetivo da lavagem é a retirada de meio de cultura aderido aos brotos para evitar a proliferação de insetos e micro-organismos oportunistas durante a aclimatização. A retirada das raízes tem o mesmo objetivo, além de facilitar a acomodação das mudas no substrato. Após esta limpeza, os brotos devem ser plantados em tubetes (2,5x12,0cm, volume de 55cm³) contendo substrato composto por casca de arroz carbonizada e esterco peneirado de aves (8:1). Durante o plantio, recomenda-se manter os brotos hidratados para não diminuir a taxa de sobrevivência dos mesmos. Os tubetes com os brotos devem ser então mantidos em uma estufa de nebulização sob tela de sombreamento 80% para ocorrer a aclimatização e o estabelecimento inicial das plantas (Figura 9). Espera-se com esses procedimentos uma sobrevivência de brotos mínima de 95%. Após esse estabelecimento, que pode levar de quatro a oito semanas, dependendo do genótipo, do tamanho inicial do broto e das condições climáticas, os brotos devem ser transferidos para a fase de crescimento e formação de mudas.

## 2.3.6 Fase de crescimento e formação de mudas

Mudas provenientes da fase anterior devem ser transferidas para sacos de mudas (de 1 a 2L) contendo substrato composto pela mesma base do anterior, casca de arroz carbonizada e esterco peneirado de aves (8:1), porém, nesta fase, para cada 81dm³ de substrato (73dm³ de casca de arroz + 9dm³ de esterco peneirado) se adiciona 90g de adubo mineral NPK 14/16/18, de preferência triturado, e 100g de calcário. Nesta fase as mudas devem ser acomodadas em casa de vegetação sob tela de sombreamento 50%. Recomenda-se que as mudas sejam plantadas em campo assim que atingirem cerca de 40cm de altura (Figura 10). Duas semanas antes do plantio as mudas devem ser transferidas gradualmente para um ambiente mais seco e com menos sombra.

Recomenda-se que todo o processo de aclimatização e formação da muda seja realizado em casa de vegetação protegida com tela antiafídica.



inicial dos brotos; D) Brotos após retirada de excesso de meio de cultura e raízes; E) Brotos mantidos hidratados durante o plantio em tubetes; F) Brotos Figura 9. Fase de aclimatização. A) Brotos ao final da fase de crescimento in vitro; B) Brotos retirados do frasco de crescimento in vitro; C) Lavagem recém-plantados em tubetes; G) Mudas em aclimatização em estufa de nebulização; H) Muda em tubete após quatro semanas de desenvolvimento

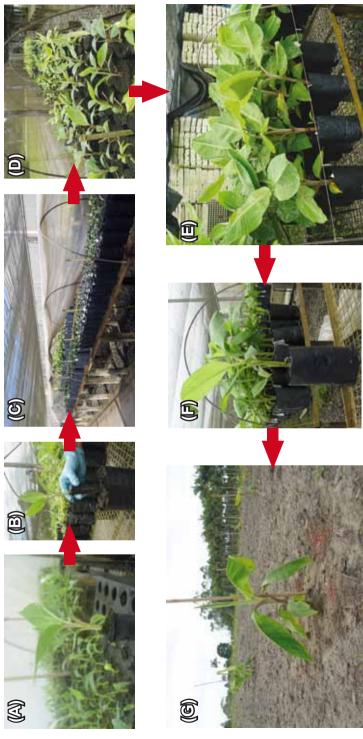


Figura 10. Fase de crescimento e formação de mudas. A) Muda em tubete após fase de aclimatização; B) Planta sendo transferida para saco de muda; C) Mudas recém-transferidas dos tubetes para sacos de mudas; D) Plantas em desenvolvimento em sacos de mudas; E) Mudas desenvolvidas; F) Destaque de muda em tamanho ideal para o plantio definitivo (em torno de 40cm); G) Plantas em campo

Observações: Para empresas produtoras de mudas, sugere-se que a qualidade genética e fitossanitária das mudas produzidas seja uma prioridade. E que alternativas para aumentar a eficiência da produção de mudas sejam acompanhadas na literatura científica, sempre com o compromisso da manutenção da fidelidade genotípica e com a limpeza viral das mudas. Neste sentido, sistemas de micropropagação com menores concentrações de sacarose (ex.: 50% do recomendado neste boletim técnico), exposição dos frascos à luz natural (evitando a incidência direta de raios solares) e a utilização de injeção de CO<sup>2</sup> ou a circulação de ar nos frascos têm apresentado resultados promissores, principalmente na fase de crescimento e enraizamento in vitro de bananeira, fase chamada de endurecimento in vitro (Emara et al., 2018; Costa et al., 2009; Antunes et al., 2010). Esses procedimentos (juntos ou individuais) têm o objetivo de reduzir custos e produzir folhas com anatomia mais característica de plantas aclimatizadas, reduzindo assim as perdas na aclimatização das mudas micropropagadas. Quanto à fase de aclimatização, caso não seja possível produzir o substrato indicado, sugere-se utilizar algum outro substrato ou solo descontaminado, livre de pragas e doenças. Além disso, recipientes para acomodação de mudas de diferentes tamanhos e materiais podem se ajustar melhor em cada caso específico.

## 2.3.7 Comercialização das mudas

Biofábricas costumam comercializar as mudas em frascos ao final da fase de crescimento "item 2.3.4.", ou após a fase de aclimatização, "item 2.3.5", em tubetes, bandejas de mudas ou em sacos de mudas. Neste sentido, seguem as regulamentações específicas para as seguintes doenças:

## Sigatoka negra

De acordo com a IN Mapa 17/2005 (BRASIL, 2005b), as mudas devem ser pré-aclimatizadas ou aclimatizadas em estufas ou casas de vegetação e tratadas com fungicidas registrados para controle da doença 10 dias antes de sua expedição para as unidades da federação, ou devem ser transportadas ainda *in vitro* (Figura 11A).

## **BSV e CMV**

De acordo com a IN Mapa 46/2010 (BRASIL, 2010), cada lote de mudas produzidas para a comercialização deverá ser submetido a exame em laboratório credenciado pelo Mapa para a confirmação da isenção de infecção de BSV (Figura 11B) e CMV, devendo-se realizar amostragem em, no mínimo, 0,25% (zero vírgula vinte e cinco por cento) das mudas de cada lote produzido, observando-se o número mínimo de 3 (três) mudas.

## Moko da bananeira

De acordo com a IN Mapa 17/2009 (BRASIL, 2009), para estados sem a presença da Praga, como no caso de Santa Catarina (IN SDA 22/2013) (BRASIL, 2013), não há obrigações adicionais relacionadas à coleta de explantes, uma vez que todo o estado é reconhecido como Área Livre da Praga *Ralstonia solanacearum* raça 2. Porém, em estados com a presença da praga, de acordo com a mesma IN Mapa 17/2009 (BRASIL, 2009), as mudas devem ser transportadas ainda *in vitro* ou, em caso da produção de mudas pré-aclimatizadas ou aclimatizadas, elas não podem ter contato com o solo local em todo o processo de produção, da aclimatização ao transporte. Além disso, as mudas devem ser provenientes de Área Livre da Praga *Ralstonia solanacearum* raça 2 (Figura 11D, E).

Observação: Mesmo não estando regulamentadas por instruções normativas, recomenda-se fortemente que as mudas de bananeira comercializadas também devam estar isentas das outras Pragas Não Quarentenárias Regulamentadas (PNQR) da bananicultura, como *Mycosphaerella musicola, Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Figura 11C) ácaros, insetos e nematoides.

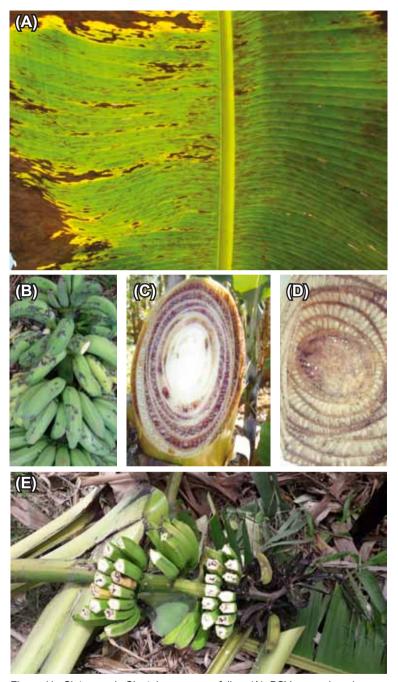


Figura 11. Sintomas de Sigatoka negra em folhas (A), BSV em cachos de bananeira (B), Mal-do-Panamá em plantas de bananeira (C) e de Moko no pseudocaule e cacho de bananeira (D, E). Fotos: Luiz Augusto Martins Peruch (A, B, C), Adriano Márcio Freire Silva (D, E)

## 3 Instruções para o bananicultor

## 3.1 Compra de mudas

O bananicultor que deseja adquirir mudas deverá adquiri-las de empresas produtoras inscritas no Registro Nacional de Sementes e Mudas (Renasem) ou comerciantes inscritos no Registro Estadual de Comerciante de Sementes e Mudas (Recsem), junto à Cidasc, no caso de Santa Catarina. Para outros estados, recomenda-se entrar em contato com o setor governamental responsável pela fiscalização do comércio de sementes e mudas.

De acordo com a Lei Federal nº 10.711 de 2003 (BRASIL, 2003) e a Lei Estadual nº 14.611 de 2009 (SANTA CATARINA, 2009) e seus regulamentos [Decreto Federal nº 5.153 de 2004 (BRASIL 2004) e Decreto Estadual nº 3.378 de 2010 (SANTA CATARINA, 2010)], as mudas adquiridas devem estar identificadas e acompanhadas da respectiva nota fiscal ou nota de produtor, do atestado de origem genética e do certificado de muda ou do termo de conformidade e quando necessário da Permissão de Trânsito Vegetal (PTV).

A produção das mudas pode seguir dois sistemas, o fechado (quando o bananicultor apenas compra as mudas – nesse caso a empresa produtora de mudas é responsável pela aquisição dos explantes) e o aberto (quando o bananicultor contrata empresa para produção de mudas para uso próprio – nesse caso o bananicultor fornece à empresa os explantes) (BRASIL, 2012).

## 3.1.1 Sistema fechado

1º passo: a empresa produtora de mudas, registrada no Renasem e, quando exigido, no registro estadual, adquire explantes provenientes de jardins clonais de plantas fornecedoras de explantes ou de campo de plantas fornecedoras de material de propagação sem origem genética comprovada provenientes de ambientes protegidos.

2º passo: a empresa produz as mudas.

3º passo: todo lote de mudas produzido tem amostras indexadas em relação ao BSV e ao CMV em laboratórios credenciados pelo Mapa. Caso alguma amostra esteja infectada, o lote inteiro deverá ser descartado.

Observação: normalmente esse processo inicia-se a partir do momento que o bananicultor encomenda as mudas para a empresa, porém há casos em que empresas oferecem mudas à pronta entrega.

## 3.1.2 Sistema aberto

1º passo: o bananicultor envia explantes para empresas produtoras de mudas regulamentadas no Renasem e, quando exigido, no registro estadual.

2º e 3º passos: os mesmos do sistema fechado.

Observações: esse processo inicia-se a partir do momento que o bananicultor envia os explantes para a empresa produtora de mudas. A biofábrica é contratada para a produção de mudas somente para o bananicultor contratante. O bananicultor não pode comercializar as mudas provindas desse sistema, ou seja, elas são apenas para seu próprio uso. Além disso, como o 2º e o 3º passo são semelhantes ao sistema fechado, todo o lote de mudas produzidas deverá ser indexado antes da entrega das mudas ao bananicultor; da mesma forma, toda matriz selecionada também deve ser indexada (com a coleta de amostras feitas no momento da coleta dos explantes). Este sistema é sugerido apenas quando se trata de uma seleção de explantes com acompanhamento técnico em um bananal com alta qualidade genética e fitossanitária e, principalmente, quando o genótipo desejado não é oferecido por jardins clonais de plantas fornecedoras de explantes.

Em ambos os casos, para a comercialização de cultivares protegidos, é necessária uma autorização do detentor dos direitos de proteção sobre o cultivar.

## 3.2 Plantio das mudas em campo

As biofábricas comercializam as mudas não aclimatizadas (normalmente ao final da fase de crescimento *in vitro*, ainda nos frascos, ou imediatamente retiradas dos frascos) ou aclimatizadas (normalmente em pequenos tubetes, bandejas de mudas ou sacos de mudas). Contudo, as mudas devem ser plantadas no pomar com uma altura próxima de 40cm. Para isso, se as mudas adquiridas não tiverem essa característica, sugere-se aos bananicultores seguir os procedimentos recomendados no item 2.3.5, "Fase de crescimento e formação de mudas". Caso não seja possível produzir o substrato indicado, sugere-se utilizar algum outro

substrato livre de pragas e doenças. Da mesma forma, sugere-se que o ambiente utilizado nesta fase esteja sob tela de sombreamento 50%, protegido com telas antiafídicas e boa umidade. Cerca de duas semanas antes do plantio, as mudas devem ser transferidas gradualmente para um ambiente mais seco e com menos sombra. É importante levar em conta a época do plantio, sendo que para Santa Catarina recomenda-se que seja preferencialmente entre setembro e fevereiro.

## 3.3 Esclarecimento de dúvidas

- Laboratórios credenciados pelo Mapa:

http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/rede-nacional-de-laboratorios-agropecuarios/diagnostico-fitossanitario

- Empresas produtoras de mudas de bananeira registradas no:
- Renasem: http://sistemasweb.agricultura.gov.br/renasem/
- -Recsem: https://sigen.cidasc.sc.gov.br/consultaempresapublico/consultaempresa
- Outras dúvidas relacionadas ao Mapa: (48) 3261-9912 (contato da superintendência do estado de Santa Catarina).
  - Dúvidas relacionadas à Cidasc: (48) 3665 7134; dedev@cidasc.sc.gov.br.
- Dúvidas relacionadas à Epagri (como, por exemplo, informações sobre cultivares mantidos em jardins clonais de plantas fornecedoras de explantes na instituição): (47) 3398-6300; eei@epagri.sc.gov.br.

## 4 Considerações finais

Considerando que as recomendações técnicas para o cultivo desta frutífera também sejam cumpridas, espera-se do bananal formado com mudas produzidas de acordo com essas recomendações:

- boas condições fitossanitárias;
- alto vigor inicial;
- crescimento inicial homogêneo;
- facilidade de manejo e condução, resultando, dentre outras coisas, na facilidade de manutenção do espaçamento;
  - sincronismo de produção, principalmente nos primeiros ciclos.

## 5 Agradecimentos

Os autores e a Epagri agradecem o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), principalmente os auditores fiscais federais Jorge Jacinto Calixto, Sergio Ricardo de Paula Pereira e Silvio Luiz Rodrigues Testasecca, assim como a Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (Cidasc), principalmente os Analistas Técnicos em Defesa Sanitária Vegetal, Fabiane dos Santos e Mario Alvaro Aloisio Verissimo, pelas leituras críticas e sugestões ao documento.

Além disso, os autores também agradecem a todos os funcionários e exfuncionários da Epagri que construíram essa metodologia ao longo dos anos de trabalho, pesquisa e extensão, principalmente os pesquisadores Gilmar Roberto Zaffari, Jorge Luiz Malburg, Luiz Alberto Lichtemberg e Robert Harry Hinz.

## Referências

ANTUNES, F.; SILVA, D.C.O.; ARAUJO W.F.; CHAGAS, E.A.; COUCEIRO, M.A. Efeito da ventilação do frasco e da sacarose no cultivo *in vitro* de banana (*Musa* sp.). In: XXI Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2010, Natal. **Anais** do XXI Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2010.

BAIRU, M.W.; FENNELL, C.W.; VAN STADEN, J. The effect of plant growth regulators on somaclonal variation in Cavendish banana (*Musa* AAA cv. 'Zelig'). **Scientia Horticulturae**, Netherlands, v.108, p.347-351, 2006.

BRASIL. Decreto federal nº 5.153 de 23 de julho de 2004 - Aprova o Regulamento da Lei nº 10.711, de 5 de agosto de 2003, que dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudas - SNSM, e dá outras providências. **Diário oficial da união**, Brasília, DF, 26 de julho de 2004, Seção 1, p. 06.

BRASIL. Lei nº 10.711 de 05 de agosto de 2003. Dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudas e dá outras providências. **Diário oficial da união**, Brasília, DF, 06 de agosto de 2003, Seção 1, p. 01.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 17. Procedimentos para a caracterização, implantação e manutenção de área livre da

Sigatoka Negra e os procedimentos para implantação e manutenção do sistema de mitigação de risco para Sigatoka Negra - *Mycosphaerella fijiensis* (Morelet) Deighton. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, de 3 de junho de 2005b, Secão 1, p. 98.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 17. Critérios para reconhecimento e manutenção de Áreas Livres da Praga *Ralstonia solanacearum* raça 2 (ALP Moko da Bananeira), visando atender exigências quarentenárias de países importadores. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, de 29 de maio de 2009, Secão 1, p. 27.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 22. Normas para a Produção e a Comercialização de Mudas e de Outras Estruturas de Propagação Obtidas por meio de Cultura de Tecidos de Plantas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, de 28 de agosto de 2012, Seção 1, p. 2.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 24. Normas para produção, comercialização e utilização de mudas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, de 20 de dezembro de 2005a, Seção 1, p. 5.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 46 Estabelecer os critérios e procedimentos de prevenção e controle das pragas *Banana Streak Virus* - BSV e *Cucumber mosaic virus* - CMV em mudas de bananeira visando a certificação fitossanitária com vistas a sua comercialização. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, de 28 de dezembro de 2010, Seção 1, p. 11.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 22. Reconhecer o estado de Santa Catarina como Área Livre da Praga *Ralstonia solanacearum* raça 2 (ALP Moko da Bananeira). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, de 9 de agosto de 2013, Seção 1, p. 14.

COSTA, F.H.S.; PASQUAL, M.; PEREIRA, J.E.S.; CASTRO, E.M. Anatomical and physiological modifications of micropropagated 'Caipira' banana plants under natural light. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.66, p. 323-330, 2009.

DANIELLS, J.W.; BRYDE, N.J. Banana Varieties. The ACIAR Years 1987-1996. **Information Series** Q101013, Queensland: Australia, QDPI, 2001, 69 p.

DEBIASI, C.; ZAFFARI, G.R.; GUERRA, M.P. Effect of photosynthetically active radiation on the *in vitro* initial development of banana cultures. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.9, n.2, p.175-176, 2003.

DEBIASI, C.; ZAFFARI, G.R; SALERNO, A.R; GUERRA, M.P. Correlação entre a capacidade proliferativa *in vitro* e a dominância apical *in vivo* da bananeira cvs. Grand Naine e Nanicão. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.3, p. 597-600, 2002.

DIEKMANN, M.; PUTTER, C.A.J. **Technical Guidelines for the Safe Movement of Germplasm –** *Musa* **spp. Rome: Italy, FAO/IPGRI, 1996, 26 p.** 

EMARA, H.A.; NOWER, A.A.; HAMZA, E.M.; EL SHAIB, F. Evaluation of Photomixotrophic Technique and Several Carbohydrate Sources as Affecting Banana Micropropagation. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, India, v.7, n.10, p. 788-804, 2018.

FAO (2019). **Food and Agriculture Organization of the United Nations - Statistics Division**. Disponível em: <a href="http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor">http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor</a>>. Acessado em: 24 de abril de 2019.

GOULART JUNIOR, R.; MONDARDO, M.; REITER, J.M.W. Relatório de projeto: Fruticultura Catarinense – Valor da produção comercial na safra 2014/15. Florianópolis: Epagri, 2017. 32p. (Epagri. Boletim Didático, 135)

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo agro 2017**. Disponível em: https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo\_agro/resultadosagro/index.html. Acessado em 06 de setembro de 2018.

LANGDON, R. The banana as a key to early American and Polynesian history. **Journal of Pacific History**, Australia, v.28, p.15-35, 1993.

LI-FEN, L.; WANG, H.Y.; ZHANG, C.; WANG, X.F.; SHI, F.X.; CHEN, W.N.; GE, X.J. Origins and domestication of cultivated banana inferred from chloroplast and nuclear genes. **PLOS ONE**, USA, v. 8, n. 11, 2013. Disponível em: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0080502. Acessado em 10 de Janeiro de 2018.

LIVRAMENTO, G.; NEGREIROS, R.J.Z. **Banana: Recomendações técnicas para o cultivo no litoral norte de Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri, 2016. 101p. (Epagri. Sistema de produção, 49).

MEDEIROS, D. Taxa de multiplicação de mudas micropropagadas de bananeira cv. Grande Naine e cv. Prata Catarina influenciada pela fase de estabelecimento de cultura. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências - Recursos Genéticos Vegetais) - Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Sweden, v.15, n.3, p. 473-497, 1962.

NASCIMENTO JUNIOR, B.B.; OZORIO, I.P.; REZENDE, C.M.; SOARES, A.G.; FONSECA, M.J. DE O. Diferenças entre bananas de cultivares Prata e Nanicão ao longo do amadurecimento: Características físico-químicas e compostos voláteis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos (Impresso)**, Campinas, v.28, n.3, p.649-658, 2008.

PERRIER, X.; DE LANGHE, E.; DONOHUE, M.; LENTFER, C.; VRYDAGHS, L.; BAKRY, F.; CARREEL, F.; HIPPOLYTE, I.; HORRY, J.P.; JENNY, C.; LEBOT, V.; RISTERUCCI, A.M.; TOMEKPE, K.; DOUTRELEPONT, H.; BALL, T.; MANWARING, J.; DE MARET, P.; DENHAM, T. Multidisciplinary perspectives on banana (*Musa* spp.) domestication.

Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America, USA, v.108, n.28: p.1311-1318, 2011.

RODRIGUES, P.H.V.; TULMANN NETO, A.; CASSIERI NETO, P.; MENDES, B.M.J. Influence of the number of subcultures on somaclonal variation in micropropagated Nanicão (Musa Spp., AAA group). **Acta Horticulturae**, Belgium, v. 490, p. 469-474, 1998.

SALERNO, AR.; ZAFFARI, GR. Micropropagação da bananeira (Musa sp Grupo AAA, subgrupo Cavendish): efeito do espaçamento e empilhamento de recipientes em sala de crescimento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Brasil, v. 21, n.2, p. 204-207, 1999.

SANTA CATARINA (Estado) Decreto nº 3.378 de 8 de julho de 2010. Regulamenta a Lei nº 14.611, de 7 de janeiro de 2009, que dispõe sobre a fiscalização do comércio de sementes e mudas no território catarinense. **Diário Oficial do Estado**, Florianópolis, SC, 08 de julho de 2010.

SANTA CATARINA (Estado). Lei nº 14.611 de 7 de janeiro de 2009. Dispõe sobre a fiscalização do comércio estadual de sementes e mudas. **Diário Oficial do Estado**, Florianópolis, SC, 07 de janeiro de 2009.

SANTOS-SEREJO, J.A.; SOUZA, AS.; SOUZA, FVD.; JUGHANS, TG.; LINO, LSM.; SOARES, TL.; SOUZA, EH. Micropropagação da bananeira. In: Jughans TG, Souza AS (Eds.). **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2009. p. 237-255.

SEBRAE. **Banana: relatório completo**. 2008. 88p. Disponível em: http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS\_CHRONUS/bds/bds.nsf/8E2336FF6093AD96832574 DC0045023C/\$File/NT0003904A.pdf. Acesso em 01 de setembro de 2017.

SIMMONDS, NW.; SHEPHERD, K. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. **Journal of the Linnean Society of London (Botany)**, England, v.55, p. 302:312, 1955.

SÍNTESE ANUAL DA AGRICULTURA DE SANTA CATARINA: 2015-2016. Florianópolis: Epagri, 2016. 188p. Disponível em: <a href="http://docweb.epagri.sc.gov.br/website\_cepa/">http://docweb.epagri.sc.gov.br/website\_cepa/</a> publicacoes/Sintese 2016.pdf> Acessado em: 10 de julho de 2017.

SMULDERS, M.J.M.; DE KLERK, G.J. Epigenetics in plant tissue culture. **Plant Growth Regulation**, Netherlands, v.63, n.2, p.137-146, 2011.

SOUZA, A.T.; PEIXOTO, A da N.; WAACHHOLZ, D. **Banana**. Florianópolis: Instituto de Planejamento e Economia Agrícola de Santa Catarina, 1995, 103 p. (Estudo de economia e mercado de produtos agrícolas. 2).

TCACENCO, F.A.; ZAFFARI G.R.; LESSA, A.O.; BROSE, E.; VIEIRA, R.L.; DALAGNOL, G.L.; VIDOR, M.A. Biotecnologia aplicada à produção *in vitro* de mudas. **Agropecuária Catarinense**. Florianópolis. v. 14. n.3. p. 19-22. 2001.

WANG, Q.M.; WANG, L. An evolutionary view of plant tissue culture: somaclonal variation and selection. **Plant Cell Reports**, Germany, v.31, p.1535–1547, 2012.

ZAFFARI, G.R.; SOLIMAN FILHO, L.F.; STUKER, H. Efeito do tamanho do explante e da quebra de dominância apical sobre a brotação de mudas de bananeira *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.16, n.3, p. 71-76, 1994.

ZAFFARI, G.R.; KERBAUY, G.B. Análise da variação somaclonal em mudas micropropagadas de *Musa acuminata* cultivar Grande Naine por meio de marcadores RAPD. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.23, p.76-80, 2010.

ZAFFARI, G.R.; KERBAUY, G.B.; KRAUS, J.E.; ROMANO, E.C. Hormonal and histological studies related to *in vitro* banana and formation. **Plant Cell Tissue and Organ Cultures**, Netherlands, v.63, n. 3, p.187-192, 2000.

ZAFFARI, G.R.; PERES, L.E.P.; KERBAUY, G.B. Endogenous levels of cytokinins, indoleacetic acid, abscisic acid, and pigments in variegated somaclones of micropropagated banana leaves. **Journal of Plant Growth Regulation**, USA, v.17, n.2, p. 59-61, 1998.

ZAFFARI, G.R.; PERES, L.E.P.; TCACENCO, F.A.; KERBAUY, G.B. Indole-3-acetic acid metabolism in normal and dwarf micropropagated banana plants (*Musa* spp. AAA). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 14, n.3, p. 211-217, 2002.







www.twitter.com/epagrioficial

www.instagram.com/epagri

http://publicacoes.epagri.sc.gov.br

