

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

**Jéssica Guerra Calaes**

**FLOROGLUCINOL NO CULTIVO *IN VITRO* DA BANANEIRA**

**Montes Claros 2018**

**Jéssica Guerra Calaes**

**FLOROGLUCINOL NO CULTIVO *IN VITRO* DA BANANEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

**Orientadora: Silvia Nietsche**

**Coorientadora: Luciana Cardoso  
Nogueira Londe**

Montes Claros  
Fevereiro de 2018

G934f  
2018

Guerra Calaes, Jéssica.

Floroglucinol no cultivo *in vitro* da bananeira/ Jéssica Guerra Calaes.  
Montes Claros, 2018.  
44 f.: il.

Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Produção Vegetal,  
Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientadora: Silvia Nietzsche.

Banca examinadora: Luciana Cardoso Nogueira Londe, Claudineia Ferreira  
Nunes, Emanuelle Ferreira Melo de Pinho.

Inclui referências: por capítulo.

1. Floroglucinol. 2. Biorreator. 3. Prata Gorutuba. 4. Grand Naine. I.  
Nietzsche, Silvia. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de  
Ciências Agrárias. III. Título

CDU: 634.1

**Jéssica Guerra Calaes**

**Floroglucinol no cultivo *in vitro* da bananeira**

Aprovado pela banca examinadora constituída por:

Pesquisadora Dra. Luciana Cardoso Nogueira Londe  
EPAMIG

Profa. Dra. Claudineia Ferreira Nunes  
UFMG

Profa. Dra. Emanuelle Ferreira Melo de Pinho

---

Profa. Dra. Silvia Nietsche  
(Orientadora)  
UFMG

Montes Claros, 02 de Fevereiro de 2018

## FLOROGLUCINOL NO CULTIVO *IN VITRO* DA BANANEIRA

### RESUMO

O flogroglucinol é um composto fenólico conhecido por suas propriedades associadas à promoção do crescimento das plantas, entretanto aplicações e efeitos no cultivo *in vitro* vegetal raramente são relatados. O presente trabalho teve como objetivo determinar a melhor concentração do flogroglucinol para o crescimento e multiplicação das bananeiras Prata Gorutuba e Grand Naine em três sistemas de cultivo. No primeiro trabalho, foram avaliadas as características altura, diâmetro, número de folhas e número de raízes de três clones da bananeira Prata Gorutuba em meio líquido e semissólido. No segundo trabalho, foram avaliadas as características altura, diâmetro, número de folhas, comprimento de folhas, número de raízes e comprimento de raízes das cultivares Prata Gorutuba e Grand Naine em biorreatores de imersão temporária. Para meio líquido e semissólido, observou-se que o flogroglucinol associado ao BAP e ANA, influenciou no desenvolvimento dos explantes dos clones da banana Prata Gorutuba, indicando, também, um comportamento diferente sob os meios (líquido e semissólido) empregados. Já para o cultivo em biorreatores, o flogroglucinol teve influência sobre o desenvolvimento dos explantes dos clones de Prata Gorutuba e da cultivar Grand Naine. No entanto a testemunha (sem flogroglucinol) apresentou resultados significativamente superiores aos tratamentos com o flogroglucinol o qual, associado à citocinina e à auxina, influencia no desenvolvimento das cultivares Prata Gorutuba e Grand Naine, mostrando diferenças sob os meios empregados.

Palavras-chave: *Musa* spp. Biorreator. Prata Gorutuba. Grand Naine.

## FLOROGLUCINOL IN THE *IN VITRO* CULTIVATION OF THE BANANA

### ABSTRACT

Phloroglucinol is a phenolic compound known for its properties associated with the promotion of plant growth, however, applications and effects on in vitro plant culture are rarely reported. The objective of this work was to determine the best phloroglucinol concentration for the growth and multiplication of the Prata Gorutuba and Grand Naine banana plants in three cultivation systems. In the first work, the characteristics height, diameter, number of leaves and number of roots of three clones of the Gorutuba Silver banana plant were evaluated in liquid and semi - solid medium. In the second work, height, diameter, number of leaves, leaf length, root number and root length of the cultivars Prata Gorutuba and Grand Naine were evaluated in temporary immersion bioreactors. In the first work it can be observed that the phloroglucinol associated with BAP and ANA, influenced the development of the clones of the banana Prata Gorutuba, showing different behavior under the media (liquid and semi-solid) used. In the second study, phloroglucinol had influence on the development of the clones of *Prata Gorutuba* and the cultivar Grand Naine. However, the control (without phloroglucinol) presented significantly better results than the treatments with phloroglucinol. The phloroglucinol associated with cytokinin and auxin influences the development of the cultivars Prata Gorutuba and Grand Naine, showing differences under the means employed

Keywords: *Musa* spp. Biorreactor. Prata Gorutuba. Grand Naine.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	9
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	10
2.1 Objetivo Geral.....	10
2.2 Objetivos Específicos.....	10
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	11
3.1 Bananicultura.....	11
3.2 Cultivares.....	11
3.2.1 Prata Anã.....	11
3.2.2 Prata Gorutuba.....	11
3.2.3 Grand Naine.....	12
3.3 Cultura de Tecidos.....	12
3.3.1 Meios de Cultura.....	13
3.3.2 Phloroglucinol (Floroglucinol).....	14
3.3.3 Biorreator.....	14
<b>3.4 Referências</b> .....	16
<b>4 ARTIGOS</b> .....	19
<b>4.1 Artigo 1- Estabelecimento de explantes de clones de bananeira Prata Gorutuba (ME, R15 e R81) em meio MS líquido e semissólido</b> .....	19
<b>Resumo</b> .....	19
<b>Abstract</b> .....	19
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	20
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	20
2.1 Ensaios Experimentais.....	20
2.2 Estabelecimento <i>in vitro</i> .....	21
2.3 Análises Estatísticas.....	22
2.4 Avaliação do Experimento.....	22
<b>3 RESULTADOS</b> .....	22
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	27
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	30
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	30
<b>4.2 Artigo 2- Estabelecimento de explantes de bananeiras Prata Gorutuba e Grand Naine em Biorreatores de imersão temporária</b> .....	32
<b>Resumo</b> .....	32
<b>Abstract</b> .....	32
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	33
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	33

2.1 Ensaio Experimentais.....	33
2.2 Estabelecimento <i>in vitro</i> .....	34
2.3 Análises Estatísticas.....	35
2.4 Avaliação do Experimento.....	35
<b>3 RESULTADOS</b> .....	35
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	39
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	42
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	42
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	44

## 1 INTRODUÇÃO

A bananicultura destaca-se como atividade de grande importância econômica e social no Brasil, destacando as cultivares pertencentes ao grupo Prata (Prata Anã AAB), utilizadas unicamente para o mercado interno e o grupo Nanica - subgrupo Cavendish (Grand Naine AAA) usadas, principalmente, no mercado para exportação (BORGES *et al.*, 2006).

Apesar dessas variedades apresentarem alto potencial produtivo, apresentam suscetibilidade às principais doenças causadas por fungos, como Sigatoka-amarela (*Mycosphaerella musicola*), Sigatoka-negra (*Mycosphaerella fijienses*) e mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) (ALVES, 1999; SANTOS *et al.*, 2013).

Uma das práticas de maior relevância, no cultivo de frutíferas de propagação vegetativa, está no uso de material propagativo de alto valor genético e fitossanitário. Diante disso, o cultivo *in vitro* surge como uma opção para melhoristas e produtores, visto que, por meio dessa tecnologia, é produzido um grande número de mudas, isentas de patógenos e com garantia genética.

O sucesso na tecnologia e aplicação dos métodos de cultura *in vitro* deve-se à melhor compreensão dos requerimentos nutricionais das células e tecidos em cultura. A formulação do meio de cultura é essencial, para o desenvolvimento vegetativo e radicular, podendo conter combinações de nutrientes e fitorreguladores, de acordo com os requerimentos de cada espécie (FARIA *et al.*, 2002). Além da composição do meio de cultura e sua suplementação, é necessário que o sistema de multiplicação seja eficiente, para garantir o bom desenvolvimento da planta, destacando os sistemas de meio semissólido e líquido e os biorreatores. Esse último representa uma alternativa, para a micropropagação de plantas em escala comercial, com redução de mão de obra e ganhos na produtividade (ZIV, 2000; LEMOS *et al.*, 2001; ETIENNE *et al.*, 2006; PENCHEL *et al.*, 2007).

As citocininas são indispensáveis à divisão celular e as auxinas à indução do alongamento celular, fazem parte das classes de fitorreguladores mais utilizadas nesse sistema de cultivo. Já o floriglucinol (1,3,5-trihidroxibenzeno) é um benzenotriol com propriedades reguladoras do crescimento, conhecido por suas particularidades como promotor do crescimento da planta, que raramente foi estudado na cultura de tecido, uma vez que seu efeito geralmente é mascarado por outros fitorreguladores (TEIXEIRA DA SILVA *et al.*, 2013; PEREZ *et al.*, 2016).

Considerando a importância econômica e social da cultura da bananeira, bem como a necessidade de desenvolver novas tecnologias, este estudo tem como objetivo identificar a aplicabilidade do floriglucinol em sistemas de multiplicação *in vitro* da bananeira.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Determinar a melhor concentração do floroglucinol para o crescimento e multiplicação das bananeiras Prata Gorutuba e Grand Naine em três sistemas de cultivo.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o desenvolvimento *in vitro* de clones de bananeira em meio semissólido e líquido;
- Avaliar o comportamento *in vitro* das cultivares Prata Gorutuba e Grand Naine em biorreatores de imersão temporária;
- Identificar a melhor concentração do floroglucinol para a multiplicação e enraizamento no meio líquido, semissólido e biorreatores de imersão temporária.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Bananicultura

A banana (*Musa spp.*) é a principal fruta no comércio internacional e a mais popular no mundo, cultivada, na maioria dos países tropicais, com produção estimada em mais de 106 milhões de toneladas (IBGE, 2014). O Brasil participa com produção de 6.760,5 mil toneladas, ocupando o quinto lugar, sendo Bahia, São Paulo, Minas Gerais, Santa Catarina e Pará os cinco principais produtores nacionais, respectivamente (SEAPA, 2017).

No Brasil, a banana é a segunda fruta mais produzida, ficando atrás apenas da laranja. Está presente na mesa dos brasileiros, nas diversas camadas da população, com um consumo *per capita* em torno de 25 kg ano<sup>-1</sup> (GASPAROTTO; PEREIRA, 2010).

As cultivares mais exploradas no país são a Prata, a Pacovan, a Prata Anã, a Maçã, a Mysore, a Terra e a D'Angola, do grupo genômico AAB, utilizadas unicamente para o mercado interno, e a Nanica, Nanicão e Grande Naine, do grupo AAA, usadas, principalmente, no mercado para exportação. As cultivares Prata, Prata Anã e Pacovan são responsáveis por quase 60% da área cultivada no Brasil. Entretanto todos estes genótipos são suscetíveis às principais pragas e doenças da bananeira, que podem ocasionar perdas na produção de até 100%, em função das práticas culturais utilizadas e das condições ambientais (SILVA; BOLIANI; CORRÊA, 2006).

Entre os estados brasileiros produtores, Minas Gerais se apresenta como o terceiro maior produtor de banana do país. Segundo o IBGE, em 2017, Minas teve safra estimada de 809,7 mil toneladas de bananas, cerca de 12% da produção nacional. O Norte de Minas responde por 45,06% da safra mineira de banana, com grande participação dos municípios de Jaíba, Nova Porteirinha e Janaúba, com área predominantemente cultivada com 'Prata-Anã' (DONATO *et al.*, 2009), destacando-se não só pelo volume, mas também pela qualidade e competitividade da banana produzida.

#### 3.2 Cultivares

##### 3.2.1 Prata Anã

A 'Prata-Anã' (*Musa AAB*), também conhecida como 'Prata-Rio', apresenta as pencas mais juntas que as da 'Prata', com frutos do mesmo sabor e com pontas em formato de gargalo (SILVA *et al.*, 2004); é uma planta rústica, vigorosa, com boa capacidade de competição com plantas daninhas e alta resistência à broca da bananeira e nematoides. Entretanto essa cultivar é considerada medianamente suscetível à sigatoka amarela e altamente suscetível à sigatoka negra (LICHTENBERG; ZAFARI, 2003). Além disso, o mal-do-panamá tem limitado a expansão de seu cultivo em diversas regiões do Brasil (MOREIRA e LICHTENBERG, 2006).

##### 3.2.2 Prata Gorutuba

A 'Prata Gorutuba' (*Musa AAB*) é um clone, que foi selecionado, em 1999, por meio de uma

mutação espontânea da banana 'Prata Anã', cultivada no Norte de Minas Gerais. Este material foi multiplicado *in vitro* e introduzido, em várias propriedades rurais, apresentando comportamento de tolerância ao Mal-do-Panamá e aceitáveis índices de produtividade, o que evidencia uma provável tolerância, mesmo em condições de alta pressão de inóculo (RODRIGUES, 2009).

Sua morfologia difere da 'Prata Anã' (seu ancestral comum). Tem como características principais: coloração do pseudocaule: verde-claro com cerosidade média; porte de pseudocaule: geralmente vigoroso, mesmo em solos fracos; filotaxia: similar à Prata Anã; plantas encoqueiradas somente em condição de estresse; formato do cacho: ligeiramente cônico, muito compacto e a principal diferença é a emissão da ráquis no sentido horizontal e demora até 8 (oito) semanas para descer completamente, como na Prata Anã. Essa demora em descer o cacho favorece o surgimento de frutos tortos e mal formados na primeira penca; persistência de restos florais na ráquis masculina: em toda a ráquis; outras características estão sendo avaliadas. Em seu primeiro ano, a planta atinge a altura de 2,5-3m. Tratando-se dos aspectos produtivos, no primeiro cacho produz, em média, 7-8 pencas, tendo peso médio de cacho de 16kg de frutas, já no segundo cacho produz, em média, 10-11 pencas, pesando 20-24kg. A partir do 3º cacho, podem-se obter de 32-35 toneladas/hectare/ano (RODRIGUES, 2009).

### 3.2.3 Grand Naine

A cultivar Grande Naine pertence ao grupo genômico AAA, subgrupo Cavendish. Possui características de aceitação pelo mercado, produtividade e resistência às pragas e doenças muito semelhantes à cultivar Nanicão. Apresenta plantas de menor porte e fruto um pouco mais reto, em razão de maior proximidade entre as pencas. Possui extensa área foliar e um vigoroso pseudocaule que lhe confere grande resistência aos ventos. É uma bananeira de porte médio, com 2,00 a 3,40 metros de altura. Atualmente, é a bananeira mais cultivada em diversos países produtores de banana (NEGREIROS, 2013). É altamente suscetível à sigatoka-amarela, suscetível à sigatoka-negra e altamente resistente ao mal-do-panamá (MANICA, 1998).

Apresenta também alta produtividade sob condições ideais de cultivo ou sob irrigação, podendo atingir 50-60 t/ha/ciclo (SILVA *et al.*, 1999).

### 3.3 Cultura de Tecidos

O cultivo *in vitro* se destaca pelo cultivo de células, tecidos e órgãos de plantas sob ambiente asséptico e com luminosidade e temperatura controladas (ULISSES *et al.*, 2010). Essa técnica consiste em isolar de um organismo vegetal pequenos fragmentos de tecidos vivos, denominados explantes, os quais irão regenerar devido à capacidade de totipotência das células vegetais, produzindo novas plantas geneticamente idênticas à planta matriz (TORRES *et al.*, 2000).

Dentre as técnicas do cultivo *in vitro* de plantas, a micropropagação é uma forma vegetativa de propagação que tem sido utilizada, para produção de mudas de várias espécies vegetais, incluindo a banana, garantindo produção isenta de pragas e doenças, em curto espaço de tempo (MORAIS- LINO *et al.*, 2008).

As cultivares de banana exibem lenta taxa de multiplicação no campo e, dependendo do genótipo

utilizado, o processo convencional necessita de 12 meses para obter de 10 a 30 mudas, enquanto, na micropropagação, são obtidas cerca de dez vezes mais mudas em quase metade do tempo (SANTOS-SEREJO *et al.*, 2009).

O sucesso na tecnologia e aplicação dos métodos de cultura *in vitro* deve-se à melhor compreensão dos requerimentos nutricionais das células e tecidos em cultura. A formulação do meio de cultura é essencial, para o desenvolvimento vegetativo e radicular, podendo conter diferentes combinações de nutrientes, de acordo com os requerimentos de cada espécie (FARIA *et al.*, 2002).

### 3.3.1 Meios de Cultura

Os meios de cultivo empregados, para a cultura de tecido, suprem as exigências das plantas com nutrientes minerais e compostos orgânicos adicionados ao meio e a consistência do meio pode ser líquida ou sólida (ULISSES *et al.*, 2010). Diferem entre si quanto à concentração de sais, em virtude das restrições de velocidade de difusão e de gradientes de nutrientes e oxigênio necessários para a respiração dos explantes (CALDAS *et al.*, 1998).

Na grande maioria, os meios de cultivo são constituídos por macronutrientes e micronutrientes, carboidratos, fontes orgânicas de nitrogênio, vitaminas e reguladores de crescimento (QUISEN; ÂNGELO, 2008). Todavia é necessário suplementar os meios com fitorreguladores, para suprir possíveis deficiências dos teores endógenos de hormônios nos explantes empregados, para o estabelecimento da cultura (GEORGE; SHERRINGTON, 1984; SKOOG; MILLER, 1957), sendo as auxinas, citocininas e giberelinas os reguladores de crescimento mais utilizados (QUISEN; ÂNGELO, 2008).

O meio sólido é constituído por agentes geleificantes e o mais utilizado é o ágar, um polissacarídeo que confere consistência ao meio e suporte às plantas (QUISEN; ÂNGELO, 2008). Neste meio, as plantas absorvem os nutrientes pelas partes que estão em contato direto com o meio, refletindo em uma baixa produção de biomassa (LEMOS *et al.*, 2001). O meio líquido é caracterizado pela ausência desse agente geleificante, proporcionando maior facilidade de preparo e possibilita o uso de menores quantidades de meio de cultura (PEREIRA; FORTES, 2003). Além disso, o uso de meio nutritivo líquido permite maior contato do material vegetativo com o meio, proporcionando incremento de produtividade e de eficiência, no processo de propagação (PENCHEL *et al.*, 2007), sendo exigente em algum tipo de suporte ou agitação que promova a oxigenação para respiração do material vegetal (ULISSES *et al.*, 2010).

Na micropropagação de plantas, o custo de produção das mudas está fortemente associado aos reagentes químicos e equipamentos, além do tempo e custos com energia elétrica e mão de obra especializada para obtenção da muda. Em virtude deste cenário, a realização de novos trabalhos que visem otimizar, cada vez mais, os protocolos de micropropagação das mudas é essencial para ampliar o uso desta tecnologia (COSTA *et al.*, 2016). Sendo assim, Camolesi *et al.* (2010) afirmam que uma alternativa, para diminuir os custos, está relacionada com a consistência do meio. A utilização de meio líquido tem proporcionado resultados iguais ou até melhores que a do meio semissólido, para várias espécies vegetais, como bromélias (MENGARDA *et al.*, 2009), cana-de-açúcar (CIDADE *et al.*, 2006), abacaxi (OLIVEIRA *et al.*, 2007) e banana (ANDRADE *et al.*, 2011).

### 3.3.2 Phloroglucinol (Floroglucinol)

O Floroglucinol (1,3,5-trihidroxibenzeno ou phloroglucina (PG tautómero) é um benzenotriol, com propriedades reguladoras do crescimento, produto da degradação da cloridzina e do precursor na via biossintética da lignina. É um composto fenólico, conhecido por suas propriedades como promotor do crescimento da planta, que raramente foi estudado na cultura de tecido, uma vez que seu efeito geralmente é mascarado por outros fitorreguladores (TEIXEIRA DA SILVA *et al.*, 2013; PEREZ *et al.*, 2016).

O conhecimento sobre a relevância fisiológica do floroglucinol na planta é limitado. Embora seja do conhecimento da comunidade acadêmica que os tecidos das plantas de maçã acumulam grandes quantidades de floroglucinol, em resposta à invasão de vários agentes patogênicos (GOSH *et al.*, 2010), em outras espécies a função desta molécula, em condições naturais, ainda, é pouco conhecida (TEIXEIRA DA SILVA *et al.*, 2013).

Estudos referentes aos efeitos do floroglucinol no cultivo *in vitro* demonstraram efeito positivo sobre a lignificação (ROSS e CASTILLO 2009, 2010), na redução dos processos de hiperidricidade (ROSS e GRASSO, 2010), no aumento dos níveis de indução da embriogênese somática (REIS *et al.*, 2008), na eliminação da formação de calo na base dos brotos obtidos, a partir de embriões somáticos, na indução do enraizamento (TEIXEIRA DA SILVA, 2013) e para melhorar a recuperação de protocormes criopreservados (VENDRAME *et al.*, 2011). Para a bananeira, foi visto que o floroglucinol atua no desenvolvimento de brotos e raízes *in vitro* (LONDE *et al.*, 2017). O Floroglucinol, também, é conhecido por proteger as células contra o dano oxidativo causado por radicais livres e por possuir efeito crioprotetor contra o estresse oxidativo relacionado ao metabolismo (BENSON; BREMNER, 2004; KANG *et al.*, 2006). O efeito sinérgico com auxinas, ainda, foi relatado, confirmando que o floroglucinol é um promotor de auxina, embora sua eficácia dependa fortemente do genótipo (ZIMMERMAN, 1984; MAGYAR-TÁBORI *et al.*, 2010).

Este composto fenólico representa uma nova possibilidade para seu uso como um regulador de crescimento de plantas, na propagação clonal de brotos para armazenamento em curto, médio ou longo prazo. Pesquisas sugerem, desse modo, seu uso como indutor de enraizamento, para acelerar o crescimento e desenvolvimento de mudas e como meio de reduzir a hiperidricidade e fortalecer o tecido pela lignificação em sistemas de biorreatores (TEIXEIRA DA SILVA *et al.*, 2013).

### 3.3.3 Biorreator

Nas últimas décadas, os biorreatores têm permitido a produção, em larga escala, de algumas espécies de plantas, por meio da automatização em determinadas fases da micropropagação (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Os biorreatores têm sido utilizados no cultivo sob imersão temporária ou permanente de células, gemas, embriões ou qualquer propágulo que possa ser utilizado na micropropagação (TEIXEIRA, 2002), representando uma alternativa para a micropropagação de plantas, em escala comercial, com redução de mão de obra e espaço físico, ganhos na produtividade e uso de meio nutritivo líquido (ZIV, 2000; LEMOS *et al.*, 2001; ETIENNE *et al.*, 2006; PENCHEL *et al.*, 2007), permitindo a renovação do ar e

nutrientes durante o cultivo (RIBEIRO; BASTOS, 2008).

Os biorreatores de imersão temporária propiciam contato temporário do material vegetal com o meio de cultura, baseando-se no princípio de que as plantas se desenvolvem melhor e mais rapidamente, quando cultivadas em intervalos regulares de imersão, em meio líquido seguido de drenagem. Além disso, um maior contato das plantas com o meio de cultura aumenta, consideravelmente, a sua absorção, visto que os nutrientes podem ser absorvidos pelas folhas, caules e raízes, produzindo mais biomassa (LEMOS *et al.*, 2001). Segundo Teixeira (2006), o uso de biorreatores permite obter multiplicação mais acelerada, adaptável a diversas espécies vegetais; há redução significativa dos custos de mão de obra, eliminação do estresses gasosos e mecânicos; há maior uniformidade da produção e redução do custo total por unidade produzida comparado ao sistema de micropropagação tradicional.

O uso dos biorreatores possibilita, ainda, o monitoramento de alguns parâmetros essenciais ao crescimento do material vegetal, tais como controle de pH, temperatura, taxas de aeração e concentrações de etileno e dióxido de carbono (TEIXEIRA, 2002; ETIENNE *et al.*, 2006). Em geral, os sistemas de biorreatores têm sido uma forte opção para aumentar a taxa de multiplicação, bem como diminuir o custo de produção de mudas originárias de embriões somáticos, suspensões celulares ou órgãos inteiros, uma vez que não é necessária a frequente transferência dos explantes como no sistema tradicional (GEORGE, 1993).

### 3.4 Referências

- ALVES, E. J. **A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. 2. ed. Brasília: Embrapa-SPI/Cruz das Almas; Embrapa-CNPMPF, 1999. 585p.
- ANDRADE, R. A.; MARQUES, T. F.; JASPER, S. P.; JUNIOR, E. R. D.; FUZITANI, E. J.; NOMURA, E. S. Micropropagação de mudas de bananeira em meio líquido. **Comunicata Scientiae**, v.2, p.156-159,2011.
- BENSON, E. E.; BREMNER, D. Oxidative stress in the frozen plant: a free radical point of view. In: FULLER, B. J.; LANE, N.; BENSON, E. E. (Eds). **Life in the Frozen State**. CRC Press, Boca Raton, 2004. p. 205-241.
- BORGES, A. L. *et al.* **A cultura da banana**. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 3. ed. rev. e amp. – Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. (Coleção Plantar, 56).
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa Hortaliças, v.1, p.87-132, 1998.
- CAMOLESI, M. R.; FARIA, R.T.; NEVES, C. S. V. J.; MARTINS, N.A. Volume do frasco e consistência do meio de cultura na multiplicação *in vitro* da bananeira 'Maçã'. **Ciência Rural**, v. 40, p. 255-260, 2010.
- CIDADE, D. A. P.; GARCIA, R.O.; DUARTE, A.C.; MARTINS, G.S.; MANSUR, E. Morfogênese *in vitro* de variedades brasileiras de canade- açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 385-391, 2006.
- COSTA, A. M.; FARIA, R. A. N.; LONDE, L. N.; RIBEIRO, E. B.; DAMASCENA, N. de S. Cultivo *in vitro* da bananeira Prata Anã clone Gorutuba, em meio líquido, agitado e estacionário. **Revista Ceres**. v. 63, n. 3, 2016.
- DONATO, S. L. R. *et al.* Comportamento fitotécnico da bananeira 'Prata-Anã' e de seus híbridos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 12, p.1608-1615, 2009.
- ETIENNE, H.; DECHAMP, E.; BARRY-ETIENNE, D.; BERTRAND, B. Bioreactors in coffee micropropagation. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n.1, p. 45-54, 2006.
- FARIA, R. T.; SANTIAGO, D. C.; SARIDAKIS, D. P.; ALBINO, U. B.; ARAÚJO, R. Preservation of the brazilian orchid *Cattleya walkeriana* Gardner using *in vitro* propagation. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 2, n. 3, p. 489- 492, 2002.
- GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J. C. R. (Ed.). **A Cultura da bananeira na região Norte do Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. 310p.
- GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. London: The technology Exegetics, 1993. 574p.
- GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant propagation by tissue culture: handbook and directory of commercial laboratories**. Basingstoke, England: Eastern Press,1984. 709p.
- GOSH, C.; HALBWRITH, H., STICH, K. Phloridzin: Biosynthesis, distribution and physiological relevance in plants. **Phytochemistry**, v. 71, p. 838–843, 2010.
- IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2014. Disponível em < [http://www.agricultura.mg.gov.br/images/files/.../perfil\\_fruticultura\\_2014.pdf](http://www.agricultura.mg.gov.br/images/files/.../perfil_fruticultura_2014.pdf) >. Acesso: 28 dez. 2017.
- KANG, K. A.; LEE, K. H.; CHAE, S.; ZHANG, R.; JUNG, M. S.; HAM, Y. M.; BAIK, J. S.; HYUN, J. W. Cytoprotective effect of floriglucinol on oxidative stress induced cell damage via catalase activation. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 97, p. 609-620, 2006.
- LEMOS, E. E. P. de; FERREIRA, M. de S.; ALENCAR, L. M. C. de; OLIVEIRA, J. G. L.; MAGALHAES, V. S. Micropropagação de clones de banana cv. Terra em biorreator de imersão temporária. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, p. 482-487, 2001.

- LICHTEMBERG, L. A.; ZAFFARI, G. R. Banana. In: **Avaliação de cultivares para o Estado de Santa Catarina** 2003/2004. Florianópolis: Epagri, p.31-38. 2003. (Boletim Técnico, 120).
- LONDE, L. C. N.; VENDRAME, W. A.; OLIVEIRA, A. B. De.; SANAEY, M.; COSTA, A. M. Floriglucinol is Effective for *in vitro* Growth and Multiplication of *Musa accuminata* Cv. Grand Naine Shoots and Roots. **Journal of Advances in Biology e Biotechnology**, v.13, n. 2, p. 1-8, 2017.
- MAGYAR-TÁBORI, K.; DOBRÁNSZKI, J.; BULLEY, S. M.; TEIXEIRA DA SILVA, J.Á.; HUDÁK, L. *In vitro* shoot regeneration in apple—role of cytokinins. **Plant Cell Tissue O Organ Culture**, v. 101, p. 251–267, 2010.
- MANICA, L. (Ed). **Bananas**: do plantio ao amadurecimento. Porto Alegre: Cinco continentes, 1998. 99p.
- MENGARDA, L. H. G.; POVOAS, L.; DEBIAS, I. C.; PESCADOR, R. Estado físico do meio de cultura na propagação *in vitro* de bromeliaceae. **Scientia Agraria**, v. 10, p. 469-474, 2009.
- MORAIS-LINO, L. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SILVA, S. O.; SANTANA, J. R. F.; KOBAYASHI, A. K. Cell suspension culture and plant regeneration of a Brazilian plantain, cultivar Terra. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 10, p. 1325-1330, 2008.
- MOREIRA, R. S.; LICHTEMBERG, L. A. Banana 'Enxerto', uma brasileira centenária. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE BANANICULTURA. Sistemas alternativos de produção, 6., 2004, Joinville, **Anais...** Itajaí: SBF/ACAFRUTA, 2006. p. 243-250.
- NEGREIROS, R. J. Z. de; HINZ, R. H.; LICHTEMBERG, L. A.; MILANEZ, J. M.; ANDREOLA, F. **Banana Recomendações técnicas para o cultivo em Santa Catarina**. 2013. Disponível em: <[http://www.epagri.sc.gov.br/?page\\_id=1349](http://www.epagri.sc.gov.br/?page_id=1349)>. Acesso em: 2 jan. 2018.
- OLIVEIRA, M. K. T.; NETO, F. B.; CÂMARA, F. A. A.; NUNES, G. H. S.; OLIVEIRA, F. A. Propagação "*in vitro*" da cultura do abacaxizeiro ornamental (*Ananas lucidus* Miller). **Caatinga**, v. 20, p. 167-171, 2007.
- OLIVEIRA, M. L. de; XAVIER, A.; FILHO, R. M. P.; OTONI, W. C.; TEIXEIRA, J. B. Efeitos do meio de cultura e da relação bap/ana na multiplicação *in vitro* de clones de *Eucalyptus grandis* X *E. urophylla* em biorreator de imersão temporária. **Revista Árvore**, v. 35, n. 6, p. 1207-1217, 2011.
- PENCHEL, R. M.; OTONI, W. C.; XAVIER, A. Tecnologia de biorreatores e propagação fotoautotrófica *in vitro*. In: Borém, A. (Ed.). **Biotecnologia Florestal**. Viçosa: UFV, 2007. cap. 4. p. 75-92.
- PEREIRA, J. E. S.; FORTES, G. R. L. Protocolo para produção de material propagativo de batata em meio líquido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 1035-1043, 2003.
- PEREZ, L. P. *et al.* Effect of floriglucinol on rooting and *in vitro* acclimatization of papaya (*Carica papaya* L. var. Maradol Roja). **In vitro Cell Developmental Biology – Plant**, v. 52, p. 196–203, 2016.
- QUISEN, R. C.; ÂNGELO, P. C. da S. **Manual de procedimentos do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2008. 44 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos; 61).
- REIS, E.; BATISTA, M. T.; CANHOTO, J. M. Effect and analysis of phenolic compounds during somatic embryogenesis induction in *Feijoa sellowiana* Berg. **Protoplasma**, v. 232, p. 193–202, 2008.
- RIBEIRO, J. M.; BASTOS, D. C. **Biorreatores**: aspectos gerais e sua utilização para cultura de tecidos vegetais. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2008. 26 p. (Embrapa Semi-Árido. Documentos, 214). Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/158747/biorreatores-aspectos-gerais-e-sua-utilizacao-para-cultura-de-tecidos-vegetais>>. Acesso em: 11 maio 2017.
- RODRIGUES, F. E. Ficha técnica Prata Gorutuba (*Musa* AAB 'Prata Anã' clone: Gorutuba). 2009. Disponível em: < <http://www.sbwbrasil.com.br/pdf/Ficha-tecnica-Prata-Gorutuba.pdf>>. Acesso em: 3 jul. 2017.
- ROSS, S; CASTILLO, A. Mass propagation of *Vaccinium corymbosum* in bioreactors. **Agrociencia**, v. 13, n. 2, p. 1–8, 2009.

ROSS, S; CASTILLO, A. Micropropagación de *Achyrocline flaccida* (Weinm.) DC. en medios de cultivo líquidos. **Agrociencia**, v. 14, n. 1, p. 1–7, 2010.

ROSS, S; GRASSO, R. *In vitro* propagation of 'Guayabo del país' (*Acca sellowiana* (Berg.) Burret). **Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology**, v. 4, nesp 1, p. 83–87, 2010.

SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, A. S.; SOUZA, F. V. D.; JUGHANS, T. G.; LINO, L. S. M.; SOARES, T. L.; SOUZA, E. H. **Micropropagação da bananeira**. In: JUGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. (Ed.). Aspectos práticos da micropropagação de plantas. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, p. 237-255, 2009.

SANTOS, B.H.C. *et al.* Controle de *Meloidogyne javanica* em mudas de bananeira 'Prata-anã' por compostos orgânicos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 650-656, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452013000200038>>. Acesso em: 20 set. 2017.

SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO DE MINAS GERAIS. **Banana**. 2017. Disponível em: <[http://www.agricultura.mg.gov.br/images/Arq\\_Relatorios/Agricultura/2017/Mar/perfil\\_banana\\_mar\\_2017.pdf](http://www.agricultura.mg.gov.br/images/Arq_Relatorios/Agricultura/2017/Mar/perfil_banana_mar_2017.pdf)>. Acesso em: 10 dez. 2017.

SILVA, S. de O. e; ALVES, E. J.; SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L. Cultivares. In: ALVES, E. J. **A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. 2. ed rev. Brasília, DF: Embrapa – SPI / Cruz das Almas: Embrapa – CNPMF, 1999. p. 85-104.

SILVA, S. de O.; BOLIANI, A. C.; CORRÊA, L. S. Avaliação de cultivares de bananeira (*Musa spp.*) na Região de Selvíria-MS. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 101-103, 2006.

SILVA, S. O; SANTOS-SEREJO, J. A; CORDEIRO, Z. J. M. Variedades. In: BORGES, A. L; SOUZA, L. S (Edit.). **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 45-58.

SKOOG, F.; MILLER, C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. **Symposia of the Society for Experimental Biology**, v. 11, p. 118-130, 1957.

TEIXEIRA, J. B. Biorreatores. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 4, p. 36-41, 2002.

TEIXEIRA, J. B. **Produção de mudas clonais em biofábricas e uso de biorreator**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 180). Disponível em: <<http://www.cenargen.embrapa.br/clp/publicacoes/doc/doc180.pdf>>. Acesso em: 21 ago. 2017.

TEIXEIRA DA SILVA, J. A.; DOBRÁNSZKI, J.; ROSS, S. Floroglucinol in plant tissue culture. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v.49, p.1–16, 2013.

TORRES, A.C. *et al.* **Glossário de Biotecnologia Vegetal**. Brasília: Embrapa.2000. 128p. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/hortalicas/busca-de-publicacoes/-/publicacao/769141/glossario-de-biotecnologia-vegetal>> Acesso em: 07 jul. 2017

ULISSES, C. WILLADINO, L; ALBUQUERQUE, CC.; CÂMARA, TR. **Clonagem Vegetal**. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica, v. 7, p. 86-91, 2010.

VENDRAME, W.A.; FARIA, R.T. Floroglucinol enhances recovery and survival of cryopreserved *Dendrobium nobile* protocorms. **Scientia Horticulturae**, v.128, p.131–135, 2011.

ZIMMERMAN, R. H. Rooting apple cultivars *in vitro*: Interactions among light, temperature, floroglucinol and auxin. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.3, p.301–311, 1984.

ZIV, M. Bioreactor technology for plant micropropagation. **Horticultural Reviews**, v. 24, p. 1-30, 2000.

## 4 ARTIGOS

### 4.1 ARTIGO 1- Floroglucinol na micropropagação de clones de bananeira 'Prata Gorutuba' (ME, R15 e R81) em meio MS líquido e semissólido

Este artigo foi elaborado conforme normas da Revista Plant Cell, Tissue and Organ Culture

#### Resumo

O objetivo deste trabalho foi determinar a melhor concentração do floroglucinol associado ao BAP e ANA na morfogênese de clones da banana Prata Gorutuba em meio líquido e semissólido. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x3 (concentrações de Phloroglucinol x matrizes), totalizando 12 tratamentos, com 2 repetições, sendo cada repetição constituída por 5 explantes. A matriz R15 foi superior à matriz ME e, na ausência do floroglucinol, observaram-se as melhores respostas das características morfofisiológicas. No meio líquido, a R81 foi a matriz que mais respondeu às concentrações de floroglucinol, evidenciando que a dosagem de 150 µM foi a mais responsiva para todas características avaliadas. A matriz ME foi menos responsiva. No meio sólido, a matriz R15 obteve média superior no número de brotos e a altura superior à matriz R81. A ME respondeu de forma diferenciada no diâmetro e número de folhas na dose de 100 µM. A matriz R81 obteve efeito no número de raízes na dose 50 µM. A matriz R15 respondeu à dose de 50 µM, tendo um efeito sobre o diâmetro. O floroglucinol associado ao BAP e ANA influenciou no desenvolvimento das matrizes da banana Prata Gorutuba, mostrando comportamento diferente sob os meios utilizados.

Palavras-chave: Phloroglucinol. *Musa* spp. Cultivo *in vitro*.

#### Abstract

The objective of this work was to evaluate the effects of phloroglucinol associated to BAP and NAA in the clones of the Prata Gorutuba banana morphogenesis in liquid and semisolid medium. The experiment was conducted in a completely randomized design, in a 4x3 factorial scheme (doses of Phloroglucinol x matrices), totaling 12 treatments, with 2 replicates, each replicate being constituted by 5 explants. The R15 matrix was higher than the ME matrix, in the absence of phloroglucinol the best responses of the morphophysiological characteristics were observed. In the liquid medium the R81 was the matrix that most responded to the concentrations of phloroglucinol, evidencing that the dosage of 150 µM was the most responsive for all evaluated characteristics. The ME matrix was less responsive. In the solid medium the matrix R15 obtained superior average in number of shoots and height than matrix R81. The ME responded differently in diameter and number of leaves at the dose of 100 µM. The R81 matrix had an effect on the number of roots at the 50 µM dose. The R15 matrix responded to the dose of 50 µM, having an effect on the diameter. The phloroglucinol associated to BAP and NAA, influenced the development of the matrixes of Prata Gorutuba banana, showing different behavior under the mediums used.

Keywords: Phloroglucinol. *Musa* spp. *In vitro* cultivation.

## 1 INTRODUÇÃO

A micropropagação é umas das técnicas de cultivo *in vitro* que tem maior impacto para a agricultura, pois é uma forma vegetativa de propagação, utilizada para produção de mudas de várias espécies vegetais, incluindo a banana, permitindo uma rápida multiplicação de plantas sob ambiente asséptico (ULISSES *et al.*, 2010), isentas de pragas e doenças (MORAIS- LINO *et al.*, 2008).

Os meios de cultura, utilizados no cultivo *in vitro*, são responsáveis pelo suprimento de nutrientes das plantas, as quais, por sua vez, variam quanto à sua consistência, podendo ser líquido ou semissólido. O meio semissólido é constituído por agentes geleificantes, o mais utilizado é o ágar, um polissacarídeo que confere consistência ao meio e suporte às plantas (QUISEN; ÂNGELO, 2008). Neste meio, as plantas absorvem os nutrientes pelas partes que estão em contato direto com o meio, refletindo em uma baixa produção de biomassa (LEMOS *et al.*, 2001).

Os meios líquidos permitem maior contato com o material vegetativo com o meio, proporcionando incremento de produtividade e de eficiência, no processo de propagação (PENCHEL *et al.*, 2007), sendo exigente em algum tipo de suporte e agitação que promova a oxigenação para respiração do material vegetal (ULISSES *et al.*, 2010).

Além do tipo de meio empregado, a eficiência dos sistemas de micropropagação é determinada pela taxa de multiplicação *in vitro*, que é diretamente influenciada pela adição de reguladores de crescimento ao meio de cultura (KULUS, 2015). O floroglucinol (1,3,5-trihidroxibenzeno) ou phloroglucina (PG tautómero) é um composto fenólico, conhecido por suas propriedades promotoras do crescimento da planta (TEIXEIRA DA SILVA *et al.*, 2013; PEREZ *et al.*, 2016), utilizado em diversas culturas, inclusive, a banana (LONDE *et al.*, 2017).

Considerando a relevância do sistema de micropropagação, na cultura da bananeira, a busca de novas alternativas tecnológicas, que possam melhorar o sistema de produção de mudas, associadas a um incremento da qualidade, são fundamentais e merecem atenção especial. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi determinar a melhor concentração do floroglucinol associado ao BAP e ANA, na morfogênese de clones da bananeira Prata Gorutuba, em meio líquido e semissólido.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Ensaios Experimentais

Foram realizados dois experimentos, os quais consistiram em introduzir os explantes com, aproximadamente, 4 cm, em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) Líquido sob agitação constante e meio MS semissólido.

Os experimentos foram estabelecidos isoladamente, não entrando no delineamento fatorial do trabalho.

#### Experimento I

No experimento I, utilizou-se o meio MS líquido sob agitação constante em “shaker automático” da

marca CIENTEC, modelo CT-712 (50 rpm) e foram estabelecidos os tratamentos descritos na Tabela abaixo:

**Tabela 1.** Tratamentos aplicados nos clones ME, R15 e R81.

---

T1- ME + 2,22 $\mu$ M BAP+ 2,69 $\mu$ M ANA
T2- ME + 2,22 $\mu$ M BAP+ 2,69 $\mu$ M ANA + 50 $\mu$ M Floroglucinol
T3- ME + 2,22 $\mu$ M BAP+ 2,69 $\mu$ M ANA + 100 $\mu$ M Floroglucinol
T4- ME + 2,22 $\mu$ M BAP+ 2,69 $\mu$ M ANA + 150 $\mu$ M Floroglucinol
T5- R15 +2,22 $\mu$ M BAP+ 2,69 $\mu$ M ANA
T6 - R15 + 2,22 $\mu$ M BAP+ 2,69 $\mu$ M ANA + 50 $\mu$ M Floroglucinol
T7- R15 + 2,22 $\mu$ M BAP+ 2,69 $\mu$ M ANA + 100 $\mu$ M Floroglucinol
T8- R15 + 2,22 $\mu$ M BAP+ 2,69 $\mu$ M ANA + 150 $\mu$ M Floroglucinol
T9- R81 +2,22 $\mu$ M BAP+ 2,69 $\mu$ M ANA
T10- R81 + 2,22 $\mu$ M BAP+ 2,69 $\mu$ M ANA + 50 $\mu$ M Floroglucinol
T11- R81 + 2,22 $\mu$ M BAP+ 2,69 $\mu$ M ANA + 100 $\mu$ M Floroglucinol
T12- R81 +2,22 $\mu$ M BAP+ 2,69 $\mu$ M ANA + 150 $\mu$ M Floroglucinol

---

Foram utilizadas mudas dos materiais genéticos: clone ME, proveniente da EPAMIG e os clones R15 e R81, retirados do matrizeiro da Universidade Estadual de Montes Claros.

As culturas foram mantidas em sala de crescimento com  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , sob luz branca fria ( $30 \text{ W/m}^2$ ), com 16 horas de fotoperíodo e agitação constante de 50 rpm.

O experimento foi conduzido, em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x3 (concentrações de Floroglucinol x matrizes), totalizando 12 tratamentos, com 2 repetições, sendo cada repetição constituída por 5 explantes (Tabela 1).

## Experimento II

Nesse experimento, utilizou-se o meio MS semissólido (7g/L de ágar). Os explantes foram submetidos aos mesmos tratamentos do experimento I (Tabela 1).

Foram utilizados os mesmos materiais genéticos do Experimento I.

As culturas foram mantidas, em sala de crescimento com  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , sob luz branca fria ( $30 \text{ W/m}^2$ ), com 16 horas de fotoperíodo.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x3 (concentrações de Phloroglucinol x matrizes), totalizando 12 tratamentos, com 2 repetições, sendo cada repetição constituída por 5 explantes.

## 2.2 Estabelecimento *In vitro*

Ambos os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Biotecnologia Vegetal (LABBIOTEC) da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG Norte, em Nova Porteirinha, Minas Gerais.

Para a obtenção dos explantes, foram coletadas mudas de matrizes dos clones citados acima da cultivar 'Prata Gorutuba', na Fazenda Experimental do Gorutuba, em Nova Porteirinha e na Universidade Estadual de Montes Claros, em Janaúba, Minas Gerais. Utilizaram-se mudas do tipo "chifrinho", coletadas de touceiras sadias e produtivas, as quais foram submetidas à limpeza dos tecidos escurecidos do córtex e excesso de raízes para obtenção dos domos apicais. Os domos foram tratados com solução de estreptomicina  $0,4 \text{ g.L}^{-1}$  por 30 minutos, fungicida (Derosal  $3,33 \text{ mL.L}^{-1}$ ) 30 minutos, seguido da tríplice lavagem com água destilada e autoclavada. Imersos em Lysoform (0,45% cloreto de benzil alquil Dimetil amônio/ cloreto de didecil dimetilamônio), por sete minutos, álcool 70% por cinco minutos e hipoclorito de sódio (2%) por 30 minutos, finalizando com tríplice lavagem.

Os domos apicais tratados e selecionados foram encaminhados para câmara de fluxo laminar, tendo seu tamanho reduzido a 4 cm e estabelecidos em meio de cultura semissólido formado a partir dos sais e vitaminas de MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) enriquecido com  $30 \text{ g.L}^{-1}$  de sacarose. Os explantes foram mantidos, em sala de crescimento, permanecendo no escuro durante 30 dias. Após o período de escuro, os explantes foram seccionados, longitudinalmente, em dois e re-estabelecidos em meio de cultura de mesma composição. A cada período de 30 dias, os explantes foram subcultivados até o quinto subcultivo. Os explantes foram selecionados, de acordo com o tamanho e vigor, de forma mais homogênea possível, obtendo a quantidade suficiente para o início do experimento. Todos os meios de cultura semissólidos ou líquidos, utilizados neste trabalho, tiveram o pH ajustado para  $5,8 \pm 0,1$  e esterilizados em autoclave (Prismatec) a  $121^\circ\text{C}$  por 20 minutos.

### 2.3 Análises Estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa Sisvar e análise de regressão para as concentrações do Floroglucinol.

### 2.4 Avaliação do Experimento

Ambos os experimentos foram avaliados aos 90 dias de cultivo, analisando as características altura (mm) e diâmetro do pseudocaule (mm) com auxílio de um paquímetro digital e contagem do número de folhas, número de brotos e o número de raízes por explante.

## 3 RESULTADOS

### **EXPERIMENTO I- Floroglucinol na micropropagação de clones de bananeira Prata Gorutuba (ME, R15 e R81) em meio MS líquido sob agitação constante**

Houve interação significativa ( $p < 0,05$ ) entre as matrizes de bananeira e as concentrações do floroglucinol para as características altura, diâmetro, número de folhas e número de raízes das mudas micropropagadas.

Considerando o fator material genético, foi observada uma variação na resposta entre os três clones avaliados. Na ausência do floroglucinol, o clone R15 apresentou as melhores respostas para as

características: altura, diâmetro do pseudocaule, número de folhas e número de raízes, quando comparado aos clones R81 e ME (Tabela 2). Na presença do floriglucinol, o clone R15 apresentou comportamento variável.

De uma maneira geral, considerando os caracteres avaliados e as distintas doses, o clone ME apresentou os menores valores médios (Tabela 2). O clone ME, também, não foi capaz de desenvolver raízes na ausência de floriglucinol e nas doses de 50 e 150  $\mu\text{M}$  (Tabela 2). Outra característica que merece atenção é o baixo número de folhas emitidas pelo clone ME (Tabela 2).

O clone R81 apresentou comportamento similar ao clone R15 na dose de 150  $\mu\text{M}$  de floriglucinol. Nas demais doses, em pelo menos uma delas, foram observadas diferenças significativas entre o clone R15 e o R81 (Tabela 2).

**Tabela 2.** Médias da altura (mm), diâmetro (mm), número de folhas e número de raízes dos clones de banana Prata Gorutuba (R15, R81 e ME). Análise do desdobramento dos clones dentro de cada nível das concentrações do floriglucinol, aos 90 dias de cultivo *in vitro*.

Concentrações de Floriglucinol ( $\mu\text{M}$ )				
Altura (mm)				
Clone	0	50	100	150
R15	99,84 a	78,38 a	79,31 a	86,59 a
R81	30,56 b	71,31 a	62,87 ab	86,47 a
ME	25,4 b	31,47 b	44 b	25,18 b
Diâmetro do pseudocaule (mm)				
Clone	0	50	100	150
R15	10,95 a	7,48 a	10,05 a	10,41 a
R81	7,14 b	5,28 b	10,37 a	12,16 a
ME	6,71 b	5,95 b	8,6 a	6,79 b
Número de Folhas				
Clone	0	50	100	150
R15	6,9 a	5,4 a	6,6 a	6,6 a
R81	2,2 b	4,5 ab	4,6 ab	5,5 a
ME	1 b	2,6 b	3,1 b	1 b
Número de Raízes				
Clone	0	50	100	150
R15	12,5 a	7,4 a	7,4 a	5,2 a
R81	0 b	4,9 a	2,5 b	9 a
ME	0 b	0 b	3,9 ab	0 b

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. R15, R81 e ME são clones da Prata Gorutuba.

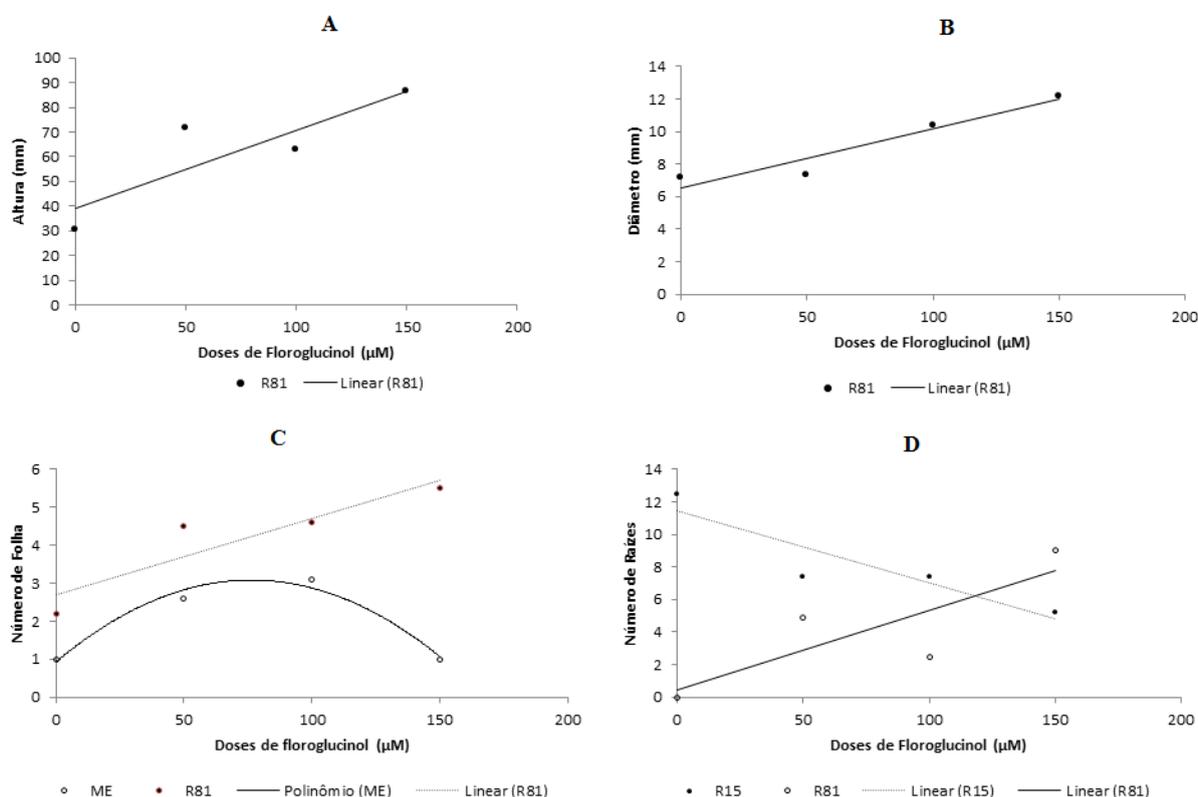
De acordo com a análise de regressão, houve efeito ( $p < 0,05$ ) para as características altura, diâmetro do pseudocaule, número de folhas e número de raízes (Figura 1). As equações representativas das variáveis analisadas, para as doses de floriglucinol, em função dos clones, estão dispostas na Tabela 3.

De uma maneira geral, o clone R81 foi altamente responsivo à aplicação do floroglucinol. Para todos os caracteres avaliados, foi observado um incremento dos valores médios das características com o aumento da dosagem do floroglucinol (Figuras 1 A, B, C e D). Houve efeito linear da altura (Figura 1A) nos explantes do clone R81. A cada aumento de 1  $\mu\text{M}$  de floroglucinol, foi observado, em média, um aumento de 0,3186 mm na altura. A maior dose (150  $\mu\text{M}$ ) proporcionou a maior altura média dos explantes (86,47 mm). O diâmetro do pseudocaule, também, apresentou comportamento similar, para cada aumento de 1  $\mu\text{M}$  de floroglucinol; foi observado, em média, um aumento de 0,0362mm no diâmetro (Figura 1B).

Como mostra a Figura 1C, à medida que se aumentaram as doses de floroglucinol do meio de cultura, houve um incremento linear do número de folhas do Clone R81 (5,5).

Para o clone ME, a única característica que respondeu às distintas doses de floroglucinol foi o número de folhas. Por meio da derivação do modelo quadrático de regressão indicou-se que a dose 70,63  $\mu\text{M}$  favoreceu o maior número médio de folhas (2,92).

Em relação ao número de raízes, ambos os clones, R15 e R81, apresentaram comportamentos lineares, mas inversos (Figura 1D). Enquanto o número de raízes, para o clone R81, cresceu linearmente, com o incremento 1  $\mu\text{M}$  das concentrações de floroglucinol, para o clone R15, foi observado um decréscimo linear, a medida que aumentou 1  $\mu\text{M}$  de floroglucinol, ocorreu uma diminuição de 0,0438 raízes.



**Figura 1.** Gráficos de dispersão, obtidos a partir de curvas de regressão para altura (A), diâmetro do pseudocaule (B), número de folhas (C), número de raízes (D), em bananeira cv. Prata Anã, clone Gorutuba (R15, R81, ME), em função de concentrações de floroglucinol aos 90 dias de cultivo *in vitro*.

**Tabela 3.** Equações de regressão referentes a altura, diâmetro do pseudocaule, número de folhas, número de raízes, da bananeira Prata Anã, clone Gorutuba (R15, R81, ME), cultivada em meio líquido, com diferentes concentrações de floroglucinol.

Regressões		
Altura	R81: $\hat{y} = 0,3186x + 38,909$	$R^2 = 0,7587$
Diâmetro do pseudocaule	R81: $\hat{y} = 0,0362x + 6,531$	$R^2 = 0,9162$
Número de folhas	ME: $\hat{y} = -0,0004x^2 + 0,0565x + 0,925$	$R^2 = 0,9683$
	R81: $\hat{y} = 0,02x + 2,7$	$R^2 = 0,8418$
Número de raízes	R15: $\hat{y} = -0,0438x + 11,41$	$R^2 = 0,8342$
	R81: $\hat{y} = 0,0492x + 0,41$	$R^2 = 0,6874$

### EXPERIMENTO II- ESTABELECIMENTO DE EXPLANTES DE CLONES DE BANANEIRA PRATA GORUTUBA (ME, R15 E R81) EM MEIO MS SEMISSÓLIDO

Houve interação ( $p < 0,05$ ) entre os clones e doses do floroglucinol para as características diâmetro do pseudocaule, número de folhas e número de raízes. Para as variáveis altura e número de brotos, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ), para interação entre as matrizes e doses do floroglucinol, portanto foram analisados de forma isolada.

Para a característica altura, houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) para o fator clone e fator doses de floroglucinol. Em relação aos clones, a R15 obteve média da altura superior ao clone R81 (Tabela 4).

De uma maneira geral, foi observado um baixo número de brotos desenvolvidos. Efeito significativo foi observado apenas para o fator clone (Tabela 4).

**Tabela 4.** Médias da altura (mm) e número de brotos dos clones de banana Prata Gorutuba (Clones R15, R81 e ME). Análise do desdobramento dos clones aos 90 dias de cultivo *in vitro*.

Média		
Matriz	Altura	Nº Brotos
R15	86,39 a	0,4 a
ME	79,83 ab	0,1775b
R81	72,93 b	0,1025 b

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Analisando a altura, em função das concentrações do floroglucinol, observou-se que houve um efeito quadrático, obtendo-se, a partir da derivação, a maior altura (98,18mm) com a dose de 32,23  $\mu\text{M}$  (Figura 1A).

O desdobramento dos clones dentro de cada nível das concentrações do floroglucinol permitiu observar um efeito desse regulador. O clone ME respondeu de forma distinta dos clones R15 e R81, nas características de diâmetro e número de folhas, na dose de 100  $\mu\text{M}$ . O clone R81 respondeu, significativamente, quanto ao número de raízes na dose 50  $\mu\text{M}$ . E o clone R15 respondeu à dose de 50  $\mu\text{M}$ , para a característica de diâmetro do pseudocaule (Tabela 5).

**Tabela 5.** Médias do diâmetro (mm), número de folhas e número de raízes dos clones de banana Prata Gorutuba (R15, R81 e ME). Análise do desdobramento dos clones dentro de cada nível das concentrações do floroglucinol, aos 90 dias de cultivo *in vitro*.

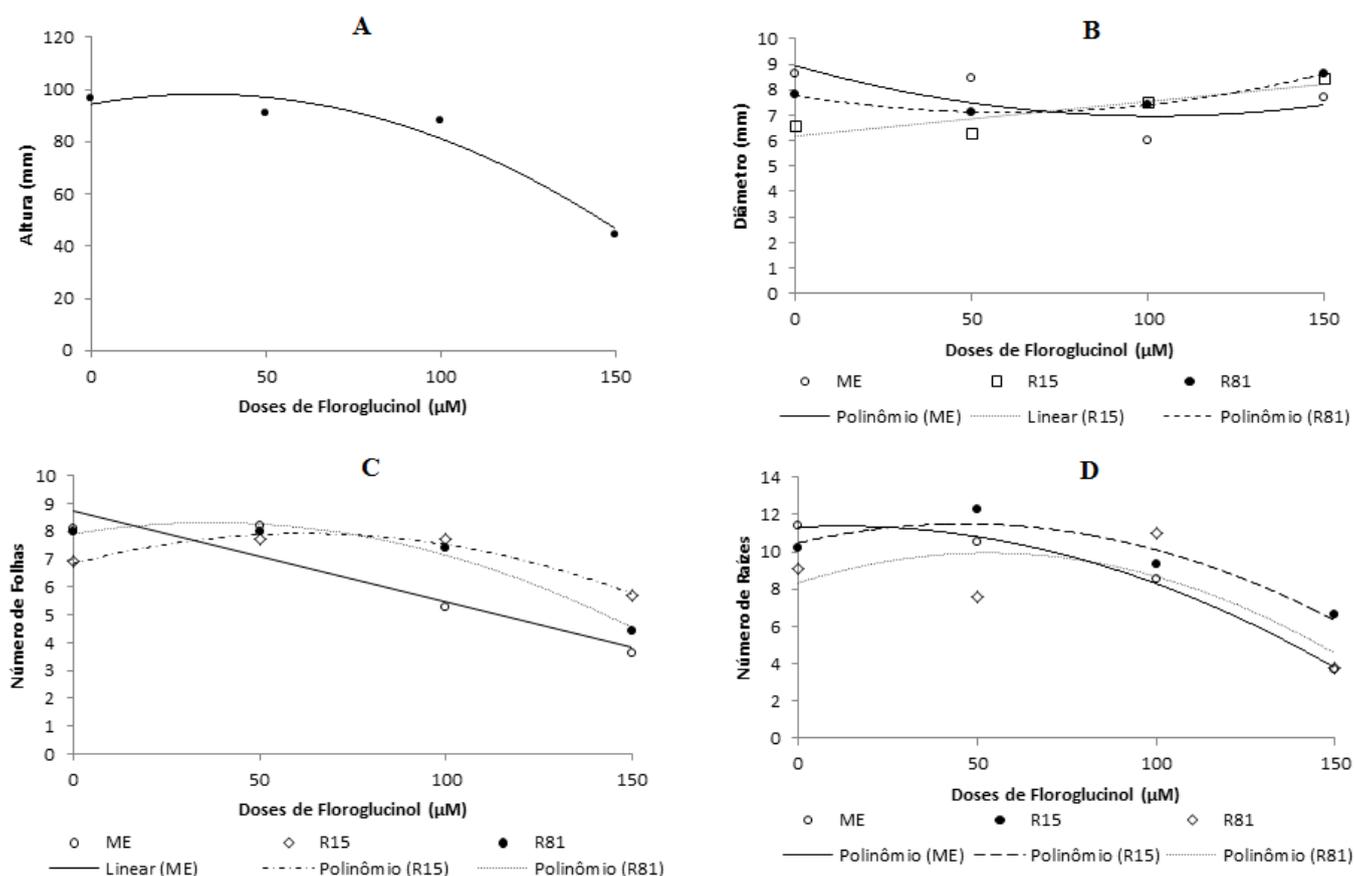
Concentrações de Floroglucinol ( $\mu\text{M}$ )				
<b>Diâmetro (mm)</b>				
Clones	0	50	100	150
ME	8,62 a	8,43 a	6,00 b	7,72 a
R81	7,78 ab	7,11 ab	7,41 a	8,61 a
R15	6,59 b	6,32 b	7,50 a	8,45 a
<b>Número de folhas</b>				
Clones	0	50	100	150
ME	8,1 a	8,22 a	5,35 b	3,60 a
R81	8,0 a	8,00 a	7,40 ab	4,44 a
R15	6,9 a	7,70 a	7,70 a	5,70 a
<b>Número de raízes</b>				
Clones	0	50	100	150
ME	11,4 a	10,56 ab	8,61 a	3,70 a
R81	9,1 a	7,60 b	11,0 a	3,78 a
R15	10,2 a	12,30 a	9,30 a	6,60 a

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. R15, ME e R81 são clones da banana Prata Gorutuba.

De acordo com a análise de regressão, houve efeito ( $p < 0,05$ ), na interação entre as diferentes concentrações do floroglucinol e as matrizes (Figura 1). As equações representativas das variáveis analisadas, para as concentrações de floroglucinol, em função das matrizes, estão dispostas na Tabela 6.

Houve efeito linear do diâmetro do pseudocaule (Figura 1B) do clone R15, visto que a maior dose (150  $\mu\text{M}$ ) promoveu o melhor resultado (8,45 mm). O clone R81 apresentou ponto de mínimo, no qual, a partir da sua derivação, a dose 56,25  $\mu\text{M}$  de floroglucinol proporcionou um diâmetro mínimo de 7,14mm. E, no caso do clone ME, também foi observado ponto mínimo, que, por meio da derivação, a dose de 97,25  $\mu\text{M}$  proporcionou diâmetro de 7,05mm.

O número de folhas (Figura 1C) diminuiu linearmente para o clone ME. A equação indica que, para cada aumento de 1  $\mu\text{M}$  de floroglucinol, espera-se, em média, uma diminuição de 0,0328 no número de folhas. Para os clones R15 e R81, por meio da derivação do modelo quadrático de regressão, indicou-se que as concentrações 58 e 36,33  $\mu\text{M}$  proporcionaram o maior número de folhas (7,85 e 8,31), respectivamente. Como mostra a Figura 1D, à medida que se aumentaram as concentrações de floroglucinol, ocorreu um incremento do número de raízes dos clones ME, R15 e R81, e a derivação do modelo quadrático de regressão mostrou que as concentrações 12,5; 44,4 e 50,58  $\mu\text{M}$  favoreceram o maior número de raízes (11,38; 11,46; 9,86 mm), respectivamente.



**Figura 1.** Gráficos de dispersão, obtidos a partir de curvas de regressão para altura (A), diâmetro (B), número de folhas (C), número de raízes (D), em bananeira cv. Prata Anã, clones Gorutuba (R15, R81, ME), em função de concentrações de floroglucinol nas diferentes matrizes, aos 90 dias.

**Tabela 6.** Equações de regressão referentes à altura, diâmetro do pseudocaule, número de folhas, número de raízes, da bananeira Prata Anã, clone Gorutuba, cultivada em meio sólido, com diferentes concentrações de floroglucinol, comparado com diferentes matrizes.

Regressões		
Altura	Concentrações: $\hat{y} = -0,0037x^2 + 0,2385x + 94,336$	$R^2 = 0,9441$
Diâmetro do pseudocaule	ME: $\hat{y} = 0,0002x^2 - 0,0389x + 8,94$	$R^2 = 0,5209$
	R15: $\hat{y} = 0,0135x + 6,201$	$R^2 = 0,8166$
	R81: $\hat{y} = 0,0002x^2 - 0,0225x + 7,7766$	$R^2 = 0,9998$
Número de folhas	ME: $\hat{y} = -0,0328x + 8,76$	$R^2 = 0,8882$
	R15: $\hat{y} = -0,0003x^2 + 0,0348x + 6,84$	$R^2 = 0,9731$
	R81: $\hat{y} = -0,0003x^2 + 0,0218x + 7,9122$	$R^2 = 0,9823$
Número de raízes	ME: $\hat{y} = -0,0004x^2 + 0,01x + 11,315$	$R^2 = 0,9959$
	R15: $\hat{y} = -0,0005x^2 + 0,0444x + 10,47$	$R^2 = 0,9129$
	R81: $\hat{y} = -0,0006x^2 + 0,0607x + 8,3239$	$R^2 = 0,5717$

## 4 DISCUSSÃO

### Experimento I

Pode-se observar que os resultados do presente estudo não nos permitiram definir uma concentração ideal de floroglucinol para os clones avaliados em meio líquido. Foi possível observar um

efeito significativo do fator clone. Esse resultado sugere fortemente a existência de variabilidade genética entre os clones e que estudos de diversidade, por meio do uso de marcadores moleculares, serão de grande valia, para direcionar os novos estudos, bem como auxiliar no processo de seleção de materiais genéticos.

Caracterizado por potencializar a ação das auxinas e estimular o enraizamento, o floroglucinol é um dos produtos de degradação da cloridzina (o 2'-glucósido do ácido gloriético), é um composto fenólico conhecido por suas propriedades reguladoras do crescimento (JAMES; THURBON, 1979; KUMAR *et al.*, 2005). Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução, além disso, formam-se em condições de estresse, como infecções, ferimentos, radiações UV, dentre outros (NACZK, 2004). Mesmo apresentando propriedades antioxidantes e de crescimento, segundo Zimmerman (1984) e Magyar-Tábori *et al.*, (2010), a sua eficácia vai depender fortemente do genótipo, o que ficou evidenciado no presente estudo pelo comportamento dos clones.

Segundo Teixeira da Silva *et al.* (2013), o floroglucinol, quando adicionado ao meio de enraizamento, associados com alguma auxina, estimula o enraizamento. Este sinergismo foi relatado para várias espécies ornamentais, frutíferas, entre outras. De Klerk *et al.* (2011), avaliando o efeito de compostos fenólicos sobre a formação de raízes, a partir de haste de maçã, observaram que o floroglucinol protege as auxinas da oxidação. Para *Pyrus calleryana*, a aplicação do floroglucinol sozinho não afetou o enraizamento, no entanto, em combinação com ANA ou AIB, promoveu o aumento do enraizamento (BERARDI *et al.*, 1993). Para o morango, o AIB poderia ser substituído com sucesso pelo floroglucinol, mas a associação dos dois reduz o enraizamento em comparação com outros tratamentos (JAMES; THURBON, 1979). Em banana Grand Naine, o floroglucinol (200 µM) induziu o crescimento e número de raízes (LONDE *et al.*, 2017). Esse fato mostra que a capacidade de induzir raiz do floroglucinol não é universal, porém, é um parâmetro experimental que precisa ser testado para genótipos individuais (TEIXEIRA DA SILVA *et al.*, 2013).

Neste trabalho, o floroglucinol foi usado em associação com BAP (citocinina) e ANA (auxina) para observar o comportamento no desenvolvimento *in vitro* da bananeira. Ficou claro que apenas um dos clones respondeu, significativamente, à associação proposta. Devemos considerar que os clones avaliados e que não foram responsivos ao floroglucinol podem não apresentar a capacidade de responder a essa molécula sintética, para essas características, como de altura, diâmetro do pseudocaule, número de folhas e raízes. Entretanto não significa que essa molécula não possa atuar em outros processos bioquímicos e metabólicos dos explantes de bananeira *in vitro*.

O clone R81 foi o mais responsivo ao floroglucinol. Sugere-se que, de alguma maneira, a associação desta molécula com os demais componentes do meio de cultivo proporcionou uma sinalização adequada, em nível celular, para a indução do crescimento das mudas micropropagadas. Londe *et al.*, (2017), também, demonstraram que a cultivar Grand Naine foi responsiva às concentrações do mesmo elemento.

Por outro lado, o cultivo *in vitro*, em meio líquido sob agitação, favorece o maior crescimento das mudas, principalmente, por causa da distribuição uniforme de nutrientes e da oxigenação fornecida nesse sistema, por meio da agitação, sendo observado, nesse experimento, que esse tipo de meio foi eficiente ao alongamento de plantas *in vitro*.

Os resultados deste ensaio demonstraram claramente que a associação do floroglucinol, em meio líquido, não foi capaz de promover respostas morfofisiológicas, para os clones R15 e ME, para a maioria dos caracteres avaliados. As diferenças observadas foram, em virtude do fator clone, fator esse fundamental e que proporcionou respostas distintas às diferentes doses de floroglucinol em associação com BAP e ANA. O clone R81, entretanto, já se mostrou mais responsivo em relação à interação do meio com as doses, sendo assim, podemos considerar a premissa de que novos estudos precisarão ser conduzidos, para compreender e avançar na proposição do uso do floroglucinol, no cultivo *in vitro* da bananeira.

## Experimento II

Independente da dosagem, o uso do floroglucinol não afetou a característica de número de brotos no meio semissólido. As diferenças observadas foram associadas ao efeito dos clones, sugerindo que os clones avaliados apresentam, provavelmente, variações de origem genéticas.

Entretanto, de uma maneira geral, os clones avaliados responderam, de maneira mais efetiva, em relação às doses de floroglucinol aplicadas. Características como o número de folhas e número de raízes foram afetadas pelas distintas doses. Ambas as características são muito relevantes durante o processo de aclimatização das mudas.

O surgimento de raízes, nos explantes *in vitro*, é considerado uma das características mais relevantes na cultura de tecidos, haja vista que, para algumas espécies, esse desafio ainda não foi superado. No presente estudo, verificou-se a ação do floroglucinol sobre o enraizamento, evidenciando o efeito positivo de compostos fenólicos sobre processos morfogênicos que ocorrem *in vitro* para estimulação da formação de raízes já relatados por Hammat e Grant (1997) e Romais *et al.*(2000). Teixeira da Silva (2013), trabalhando com duas variedades de papaya (Rainbow e Sunrise Solo) *in vitro*, produziram explante com 100% de enraizamento, utilizando a dose de 15,8  $\mu\text{M}$  de PG, porém a quantidade de raízes por explante foi menor em relação a outros tipos de auxina como AIB, AIA ou ANA. Isso significa que a associação do floroglucinol com outro fitorregulador é importante, pois ele potencializa o enraizamento, porém doses maiores de floroglucinol podem inibir a sua formação.

Londe *et al.* (2017) afirmam que concentrações elevadas do floroglucinol apresentaram redução no efeito positivo na multiplicação *in vitro* da banana cv. Grand Naine em meio semissólido. No presente estudo, também, podemos inferir pelos resultados obtidos que a associação entre o floroglucinol com o ANA e o BAP não foi eficiente para a morfogênese dos clones da cultivar Prata Gorutuba no meio semissólido.

Apesar de não haver comparação entre as cultivares, nesses dois experimentos, observa-se que o meio semissólido foi mais eficiente, no desenvolvimento dos brotos e enraizamento, características fundamentais para a manutenção da planta na fase posterior à micropropagação, a aclimatação, corroborando ou não com a literatura.

## 5 CONCLUSÃO

O floroglucinol associado ao BAP e ANA influencia o desenvolvimento dos explantes dos clones da bananeira Prata Gorutuba, evidenciando comportamento diferente sob os meios empregados e em função do tipo de clone.

## REFERÊNCIAS

- BERARDI, G; INFANTE, R; NERI, D. 1993. Micropropagation of *Pyrus calleryana* Dcn. from seedlings. **Scientia Horticultura** 53:157–165
- DE KLERK, GJ; GUAN, H; HUISMAN, P; MARINOVA, S. 2011. Effects of phenolic compounds on adventitious root formation and oxidative decarboxylation of applied indoleacetic acid in *Malus* 'Jork 9'. **Plant Growth Regulation** 63:175–185
- HAMMATT, N; GRANT, N. J. 1997. Micropropagation of mature British wild cherry. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 47:103–110
- JAMES, D. J.; THURBON, I. J. Rapid *in vitro* rooting of the apple root stock M.9. 1979. **Journal of Horticultural Science** 54:309–311.
- KULUS, D. 2015. Selected aspects of ornamental plants micropropagation in Poland and worldwide. *Nauki Przyrodnicze* 4(10):10–25.
- KUMAR V; GURURAJ, HB; NARASIMHA PRASAD, BC; GIRIDHAR, P; RAVISHANKAR, GA. 2005. Direct shoot organogenesis on shoot apex from seedling explants of *Capsicum annum* L. **Scientia Horticulturae** 106:237–246
- LEMOS, EEPde; FERREIRA, MdeS; ALENCAR, LMCde; OLIVEIRA, JGL; MAGALHAES, VS. 2001. Micropropagation of banana clones cv. Earth in temporary immersion bioreactor. **Revista Brasileira de Fruticultura** 23:482-487.
- LONDE, LCN; VENDRAME, WA; OLIVEIRA, ABDe; SANAIEY, M; COSTA, AM. 2017. Floroglucinol is Effective for *in vitro* Growth and Multiplication of *Musa accuminata* Cv. Grand Naine Shoots and Roots. **Journal of Advances in Biology e Biotechnology** 13(2): 1-8.
- MAGYAR-TÁBORI, K; DOBRÁNSZKI, J; BULLEY, SM. TEIXEIRA DA SILVA, JA; HUDÁK, L. 2010. *In vitro* shoot regeneration in apple—role of cytokinins. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 101:251–267
- MORAIS-LINO, L.S; SANTOS-SEREJO, J.A; SILVA, SO; SANTANA, JRF; KOBAYASHI, AK. 2008. Cell suspension culture and plant regeneration of a Brazilian plantain, cultivar Terra. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 43(10):1325-1330.
- MURASHIGE T, SKOOG F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum** 15:473–497.
- NACZK, M; SHAHIDI, F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of chromatography A** 1/2: 95-111.
- PENCHEL, RM; OTONI, WC; XAVIER, A. 2007. Bioreactor technology and photoautotrophic propagation *in vitro*. In: Borem, A. (Ed.). **Biotecnologia Florestal**. 4:75-92.
- PEREZ, LP; MONTESINOS, YP; OLMEDO, JG; RODRIGUEZ, RB; SANCHEZ, RR; MONTENEGRO, ON; ESCRIBA, RCR; DANIELS, D; GOMEZ- KOSKY, R. 2016. Effect of floroglucinol on rooting and *in vitro* acclimatization of papaya (*Carica papaya* L. var. Maradol Roja) **In vitro Cell Dev Biol—Plant** 52:196–203.

QUISEN, RC; ÂNGELO, PCS. 2008. Manual of procedures of the Tissue Culture Laboratory of Embrapa Western Amazon. 44- (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos; 61).

ROMAIS, E; TEIXEIRA, C; RIBEIRO, E; LOPES, S. 2000. Effect of floriglucinol on the in vitro morphogenic reaction of internode segments of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. Pera. **Revista Ceres** 47:113–120.

TEIXEIRA DA SILVA, JA; DOBRÁNSZKI, J; ROSS S. 2013. Floriglucinol in plant tissue culture. **In Vitro Cellular & Developmental Biology** 49:1–16.

ULISSES, C; WILLADINO, L; ALBUQUERQUE, CC; CÂMARA, TR. 2010. **Plant Cloning**. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica, 7:86-91.

ZIMMERMAN, RH. 1984. Rooting apple cultivars *in vitro*: Interactions among light, temperature, floriglucinol and auxin. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 3:301–311

#### 4.2 ARTIGO 2- Associação do floroglucinol em sistemas de biorreatores de imersão temporária em bananeira (*Musa spp.*)

Este artigo foi elaborado conforme normas da Revista Plant Cell, Tissue and Organ Culture

##### Resumo

O objetivo deste trabalho foi determinar a melhor concentração do floroglucinol associado ao BAP e ANA, na morfogênese das cultivares Prata Gorutuba e Grand Naine, em biorreatores de imersão temporária. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, totalizando 6 tratamentos, com 15 repetições, sendo cada repetição constituída por 1 explante. Para a Prata Gorutuba, a testemunha foi superior aos demais tratamentos. Observa-se que, entre as concentrações de floroglucinol, a dose 200  $\mu\text{M}$  favoreceu o melhor desenvolvimento da altura, diâmetro e comprimento de folhas da cultivar Grand Naine. Na ausência do floroglucinol, obteve-se maior número e comprimento de raízes número de folhas. No entanto a testemunha apresentou resultados superiores aos tratamentos. O floroglucinol teve influência sobre o desenvolvimento das cultivares Prata Gorutuba e Grand Naine, mas a testemunha apresenta resultados melhores do que as concentrações de floroglucinol.

Palavras-chave: Phloroglucinol. Cultivo *in vitro*. Prata Gorutuba. Grand Naine.

##### Abstract

The objective of this work was to determine the best concentration of floroglucinol associated to BAP and ANA in the morphogenetic cultivars Prata Gorutuba and Grand Naine in temporary immersion bioreactors. The experiment was conducted in a completely randomized design, a total of 6 treatments were used, with 15 replicates, with 1 explant. For the Prata Gorutuba the control was superior to the other treatments. It was observed, in cultivar Grand Naine, that between doses of phloroglucinol, the dose 200  $\mu\text{M}$  had the best development of height, diameter and leaf length. In the absence of the phloroglucinol, it obtained greater number and length of roots number of leaves. However, the control presented better results than the treatments. Phloroglucinol had influence on the development of the cultivars Prata Gorutuba and Grand Naine. However, the control presents better results than the concentrations of floroglucinol.

Keywords: Phloroglucinol. *In vitro* cultivation. Prata Gorutuba. Grand Naine.

## 1 INTRODUÇÃO

A banana (*Musa spp.*) é uma das frutas mais consumidas no mundo e está entre as culturas de maior importância econômica para os países tropicais e subtropicais. O Brasil se destaca como um dos maiores produtores mundiais, com produção de 6.760,5 mil toneladas (SEAPA, 2017).

A propagação convencional da banana é feita, por meio de rizomas, que, por sua vez, podem disseminar pragas e doenças, limitando o avanço da bananicultura no país (TEIXEIRA; NETO, 2011), implicando em bananais desuniformes, com baixo potencial de produção (SALOMÃO *et al.*, 2016).

Deste modo, a micropropagação é uma alternativa promissora, para obtenção de mudas geneticamente idênticas, fisiologicamente uniformes, além da produção massal em curto espaço de tempo, atendendo a demanda dos produtores (LONDE *et al.*, 2017)

Com o avanço das pesquisas, alguns métodos estão sendo empregados com a finalidade de se reduzirem os custos das mudas micropropagadas. Dentre eles, os biorreatores são uma opção para aumentar a multiplicação e diminuir o custo de produção de mudas originárias de embriões somáticos, suspensões celulares ou órgãos inteiros, uma vez que não é necessária a frequente transferência dos explantes como no sistema tradicional (GEORGE, 1993).

Os biorreatores de imersão temporária propiciam contato temporário do material vegetal com o meio de cultura, baseando-se no princípio de que as plantas se desenvolvem melhor e mais rapidamente, quando cultivadas em intervalos regulares de imersão em meio líquido seguido de drenagem; de igual modo, um maior contato das plantas com o meio de cultura aumenta, consideravelmente, a sua absorção, visto que os nutrientes podem ser absorvidos pelas folhas, caules e raízes, produzindo mais biomassa (LEMOS *et al.*, 2001).

Aliado a este fato, existe a necessidade de otimizar os níveis de reguladores de crescimento nos meios de cultivo. A ação dos reguladores está diretamente ligada com o sucesso do crescimento dos explantes, os quais são responsáveis por disponibilizar substâncias essenciais ao desenvolvimento. Dentre os compostos, encontra-se o floriglucinol (1,3,5-tri-hidroxibenzeno), um benzenotriol possuidor de propriedades reguladoras do crescimento (SARKAR; NAIK, 2000).

O efeito sinérgico com auxinas, também, foi relatado, confirmando a noção de que o floriglucinol é um promotor de auxina, embora sua eficácia dependa fortemente do genótipo (ZIMMERMAN, 1984; MAGYAR-TÁBORI *et al.*, 2010). Para a bananeira, demonstrou-se que o floriglucinol atua no desenvolvimento de brotos e raízes *in vitro* (LONDE *et al.*, 2017).

Considerando os aspectos asseverados acima, o objetivo do presente trabalho foi identificar a ação do floriglucinol associado ao BAP e ANA na morfogênese das cultivares Prata Gorutuba e Grand Naine em biorreatores de imersão temporária.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Ensaios Experimentais

Foram realizados dois experimentos os quais consistiram em introduzir os explantes com, aproximadamente, 2 cm em meio MS Líquido em biorreatores de imersão temporária.

Os experimentos foram estabelecidos, isoladamente, não entrando no delineamento do trabalho.

### Experimento I

No experimento I, utilizou-se a cultivar Prata Gorutuba em biorreatores de imersão temporária sob os tratamentos:

**Tabela 1.** Tratamentos aplicados na bananeira Prata Gorutuba.

---

T1- 2,22 µM BAP+ 2,69 µM ANA
T2- 2,22 µM BAP+ 2,69 µM ANA + 50 µM Floroglucinol
T3- 2,22 µM BAP+ 2,69 µM ANA + 100 µM Floroglucinol
T4- 2,22 µM BAP+ 2,69 µM ANA + 150 µM Floroglucinol
T5- 2,22 µM BAP+ 2,69 µM ANA + 200 µM Floroglucinol
T6- MS Basal

---

As culturas foram mantidas, em sala de crescimento com  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , sob luz branca fria ( $30\text{ W/m}^2$ ), com 16 horas de fotoperíodo.

O experimento foi conduzido, em delineamento inteiramente casualizado, totalizando 6 tratamentos, com 15 repetições, sendo cada repetição constituída por um explante.

### Experimento II

Nesse experimento, utilizou-se a cultivar Grand Naine em biorreatores de imersão temporária. Os explantes foram submetidos aos tratamentos:

**Tabela 2.** Tratamentos aplicados na banana Grand Naine.

---

T1- 2,22 µM BAP+ 2,69 µM ANA
T2- 2,22 µM BAP+ 2,69 µM ANA + 50 µM Floroglucinol
T3- 2,22 µM BAP+ 2,69 µM ANA + 100 µM Floroglucinol
T4- 2,22 µM BAP+ 2,69 µM ANA + 200 µM Floroglucinol
T5- 2,22 µM BAP+ 2,69 µM ANA + 250 µM Floroglucinol
T6- MS Basal

---

As culturas foram mantidas, em sala de crescimento com  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , sob luz branca fria ( $30\text{ W/m}^2$ ), com 16 horas de fotoperíodo.

O experimento foi conduzido, em delineamento inteiramente casualizado, totalizando 6 tratamentos, com 15 repetições, sendo cada repetição constituída por 1 explante.

### 2.2 Estabelecimento *In vitro*

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal (LABBIOTEC) da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG Norte, em Nova Porteirinha, Minas Gerais.

Para a obtenção dos explantes, foram coletadas bananeiras matrizes das cultivares 'Prata Anã Gorutuba' e 'Grand Naine', na Fazenda Experimental do Gorutuba, localizada em Nova Porteirinha,

Minas Gerais. A localização geográfica está definida pelas coordenadas 15°148'263" latitude sul e 43°17'650" longitude oeste, a altitude média de 526m. Utilizaram-se mudas do tipo "chifrinho", coletadas de touceiras sadias e produtivas, submetidas à limpeza dos tecidos escurecidos do córtex e excesso de raízes, para obtenção dos domos apicais. Posteriormente, eles foram tratados com solução de estreptomicina 0,4 g.L<sup>-1</sup> por 30 minutos, fungicida (Derosal 3,33 ml.L<sup>-1</sup>) 30 minutos, seguido da tríplice lavagem com água destilada e autoclavada. Logo depois, foram imersos em Lysoform (0,45% cloreto de benzil alquil Dimetil amônio/ cloreto de didecil dimetilamônio), por sete minutos, álcool 70% por cinco minutos e hipoclorito de sódio (2%) por 30 minutos finalizando com tríplice lavagem.

Os domos apicais tratados e selecionados foram encaminhados para câmara de fluxo laminar tendo seu tamanho reduzido e estabelecidos, em meio de cultura semissólido formado a partir dos sais e vitaminas de MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), enriquecido com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose. Em seguida, foram levados para a sala de crescimento, permanecendo no escuro por 30 dias. Após esse período, os explantes foram seccionados, longitudinalmente em dois e re-estabelecidos em meio de mesma composição. A cada período de 30 dias, os explantes foram repicados até o quinto subcultivo. Os explantes foram selecionados de acordo com o tamanho e vigor, de forma mais homogênea possível, obtendo-se a quantidade suficiente para o início do experimento. Todos os meios de cultura semissólidos ou líquidos, utilizados neste trabalho, tiveram o pH ajustado para 5,8±0,1 e esterilizados em autoclave (Prismatec) a 121°C por 20 minutos.

Para a montagem do experimento, os explantes foram levados à câmara de fluxo laminar para excisão, retirando o excesso da parte aérea e da parte radicular. Posteriormente, foram introduzidos nos biorreatores (Ralm) com os respectivos tratamentos, submetidos à imersão a cada quatro horas.

### 2.3 Análises Estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa Sisvar, análise de regressão para as concentrações do Floroglucinol e teste de Dunnett para comparação dos tratamentos com a testemunha.

### 2.4 Avaliação do Experimento

Decorridos 30 dias de cultivo para a cultivar Prata Gorutuba e 60 dias de cultivo para a Grand Naine, foram avaliados altura (mm), diâmetro do pseudocaule (mm), comprimento de folha, comprimento de raízes com auxílio de um paquímetro, e a contagem do número de raízes e número de folhas das plantas in vitro produzidas.

## 3 RESULTADOS

### EXPERIMENTO I- ESTABELECIMENTO DE EXPLANTES DE BANANEIRA PRATA GORUTUBA EM BIORREACTORES DE IMERSÃO TEMPORÁRIA

Houve efeito ( $p < 0,05$ ) das concentrações de floroglucinol para as variáveis altura, diâmetro,

número de raízes e comprimento de raízes aos 30 dias de avaliação. Para as variáveis número e comprimento de folhas, não houve efeito ( $p>0,05$ ) das concentrações de floroglucinol, sendo apresentadas apenas comparação das médias dos tratamentos em relação à testemunha. As equações de regressão estão dispostas na Tabela 3.

**Tabela 3.** Equações de regressão referentes à altura, diâmetro do pseudocaule, número de folhas, comprimento de folhas, número de raízes e comprimento de raízes, da bananeira Prata Anã, clone Gorutuba, cultivada em biorreator de imersão temporária, com diferentes concentrações de floroglucinol.

Regressões		
Altura	$\hat{y} = 0,0012*x^2 - 0,2663*x + 61,586^{**}$	$R^2 = 0,367$
Diâmetro do pseudocaule	$\hat{y} = 0,0038*x + 5,4493^{**}$	$R^2 = 0,416$
Número de Folhas	$\hat{y} = 3,08$	
Comprimento de Folhas	$\hat{y} = 27,66$	
Número de Raízes	$\hat{y} = 0,0001*x^2 - 0,0292*x + 4,1962^{**}$	$R^2 = 0,45$
Comprimento de Raízes	$\hat{y} = 0,0003*x^2 - 0,0743*x + 12,804^{**}$	$R^2 = 0,2091$

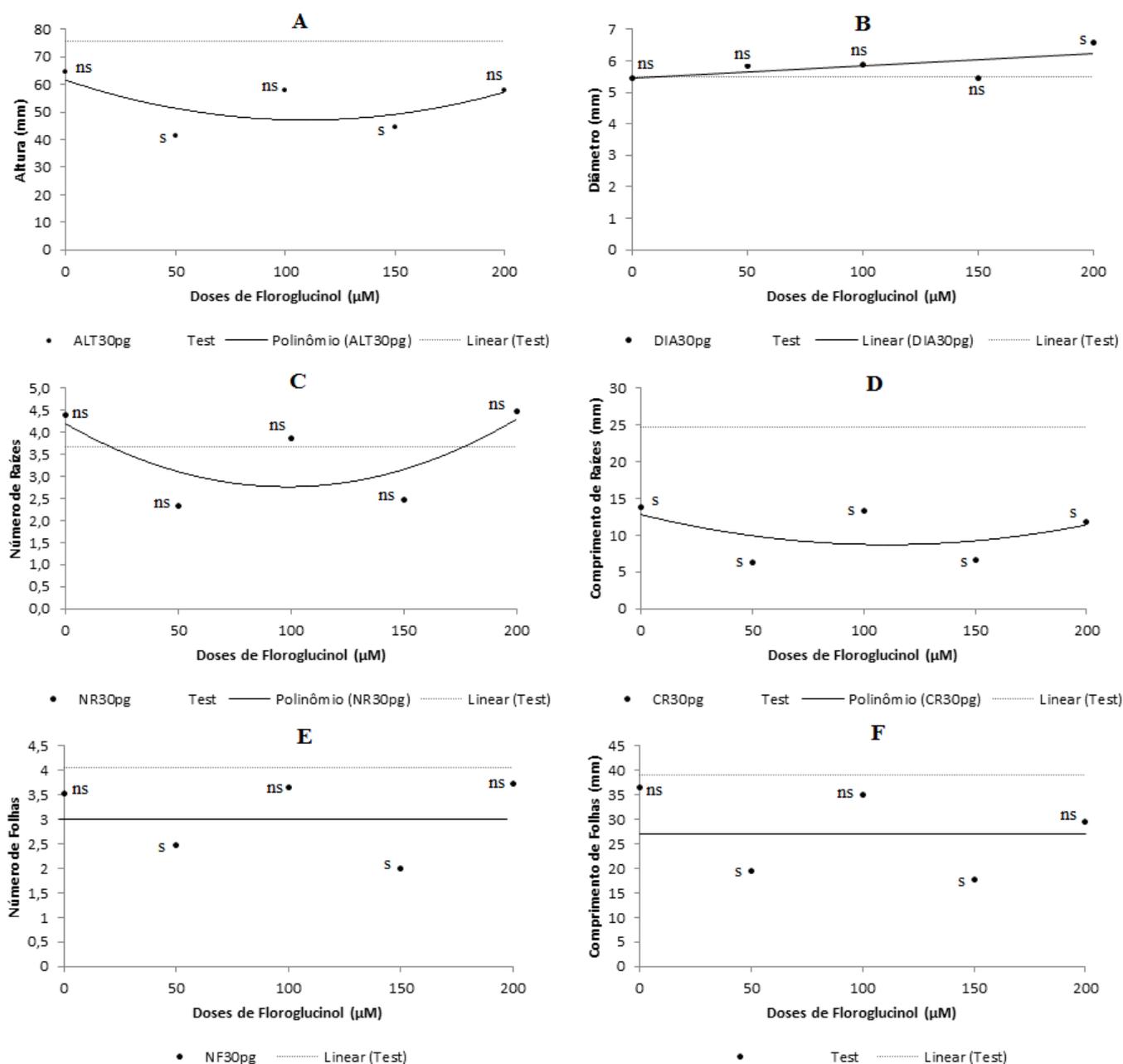
A variável altura apresentou ponto de mínimo. A partir de sua derivação, a dose 109  $\mu\text{M}$  de floroglucinol proporcionou altura mínima de 47,07 mm (Figura 1A). O meio basal (testemunha) promoveu o maior incremento para a característica de altura dos explantes, com média de 75,79 mm.

Como mostra a Figura 1B, o diâmetro do pseudocaule aumentou linearmente com o incremento das concentrações de floroglucinol. A equação indica que, para cada aumento de 1  $\mu\text{M}$  de floroglucinol, espera-se, em média, o aumento de 0,0038mm no diâmetro. Comparando-se a testemunha com os demais tratamentos, observa-se que foi estatisticamente semelhante a todas as concentrações, com exceção 200  $\mu\text{M}$  de floroglucinol.

Para a variável número de raízes, em função das concentrações de floroglucinol (Figura 1C), observa-se que apresentou ponto de mínimo, que, por meio da derivação, a dose de 146  $\mu\text{M}$  proporcionou o número de 2,06 raízes, já a maior dose (200  $\mu\text{M}$ ) apresentou maior número de raízes (4,47) (Figura 1C). Todos os tratamentos foram semelhantes à testemunha.

O comprimento de raízes apresentou ponto de mínimo. Por meio da derivação do modelo quadrático de regressão, mostrou que a dose 123,8  $\mu\text{M}$  proporcionou o comprimento mínimo de raízes de 8,2 mm e, na ausência de floroglucinol, obteve-se comprimento de 13,85mm. Ao comparar a testemunha com os tratamentos, observa-se que a testemunha foi superior a todos os tratamentos, com média de 24,69mm (Figura 1D).

Para as variáveis número de folhas e comprimento de folhas (Figura 1E,1F), a testemunha foi superior às concentrações 50 e 150  $\mu\text{M}$ .



**Figura 1.** Gráficos de dispersão, obtidos a partir de curvas de regressão para altura (A), diâmetro (B), número de raízes (C), comprimento de raízes (D), número de folhas (E) e comprimento de folhas (F), em bananeira cv. Prata Anã, clone Gorutuba, em função de concentrações de floroglucinol aos 30 dias.

## EXPERIMENTO II- ESTABELECIMENTO DE EXPLANTES DE BANANEIRA GRAND NAINÉ EM BIORRETORES DE IMERSÃO TEMPORÁRIA

Houve efeito ( $p < 0,05$ ) das concentrações de floroglucinol para as variáveis altura, diâmetro, número de folhas, comprimento de folhas, número de raízes e comprimento de raízes aos 60 dias de avaliação. As equações de regressão estão dispostas na Tabela 4.

**Tabela 4.** Equações de regressão referentes à altura, diâmetro do pseudocaule, número de folhas, comprimento de folhas, número de raízes e comprimento de raízes da bananeira Grand Naine, cultivada em biorreator de imersão temporária, com diferentes concentrações de floroglucinol.

Regressões		
Altura	$\hat{y} = 0,0009^{**}x^2 - 0,1496^{**}x + 31,361^{**}$	$R^2 = 0,6791$
Diâmetro do pseudocaule	$\hat{y} = 8E^{-05}x^2 - 0,0123^{ns}x + 7,3829^{**}$	$R^2 = 0,6552$
Número de Folhas	$\hat{y} = 0,0002^{**}x^2 - 0,049^{**}x + 3,1886^{**}$	$R^2 = 0,7261$
Comprimento de Folhas	$\hat{y} = 0,0007^{**}x^2 - 0,1203^{**}x + 11,663^{**}$	$R^2 = 0,5327$
Número de raízes	$\hat{y} = 6E^{-05}x^2 - 0,0138^{**}x + 0,7448^{**}$	$R^2 = 0,9234$
Comprimento de Raízes	$\hat{y} = 0,0001x^2 - 0,0256^{**}x + 1,6937^{**}$	$R^2 = 0,8378$

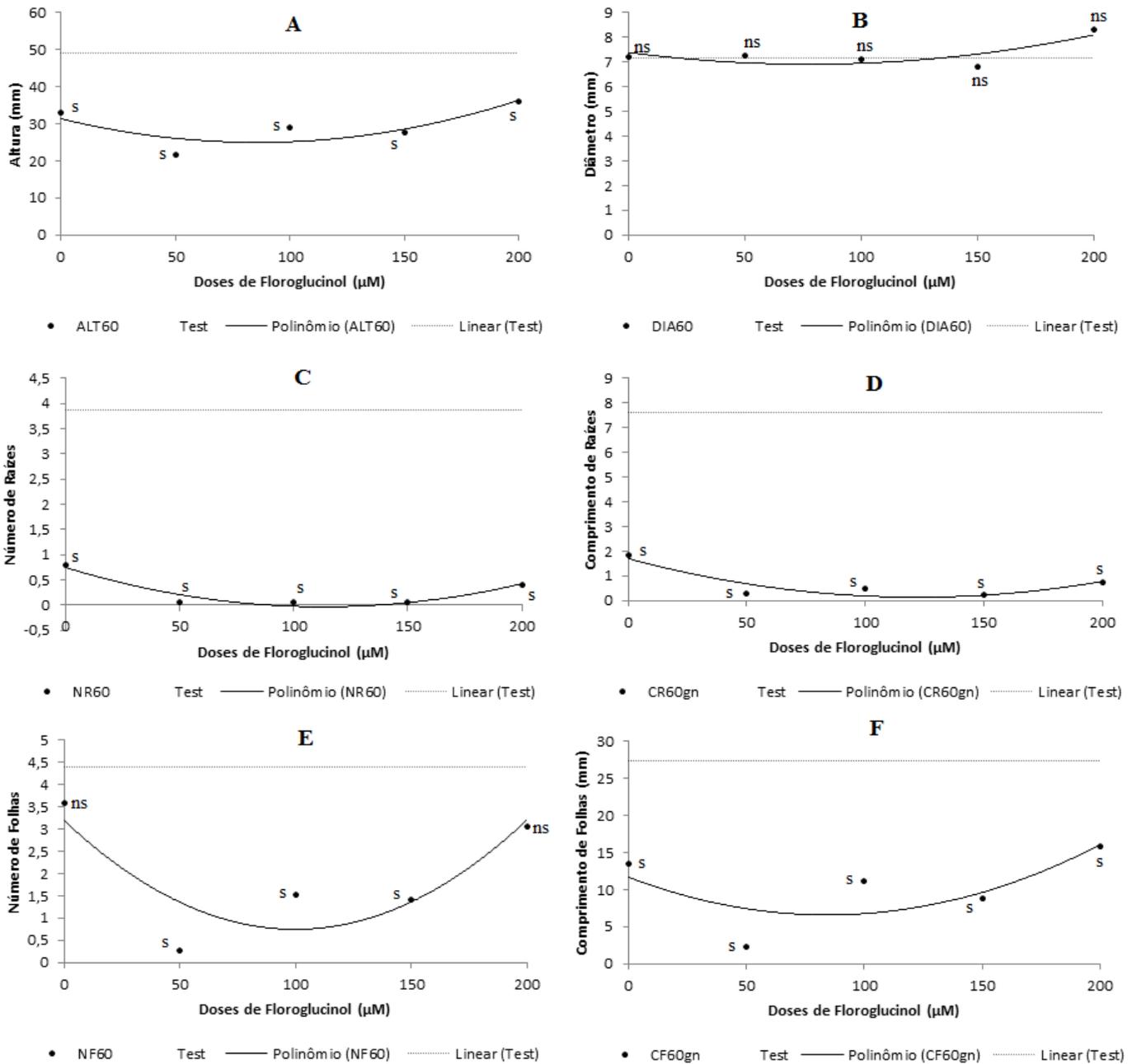
A altura apresentou ponto de mínimo. Por meio da derivação do modelo quadrático de regressão, mostrou que a dose 85,75  $\mu\text{M}$  proporcionou o comprimento mínimo da altura de 24,95mm, e a maior dose (200  $\mu\text{M}$ ) promoveu a altura de 36,15mm. Ao comparar a testemunha com os tratamentos, observa-se que a testemunha foi superior a todos os tratamentos, com média de 49,01mm (Figura 1A).

A variável diâmetro do pseudocaule, por meio da derivação da equação quadrática da regressão, proporcionou, na dose 76,88  $\mu\text{M}$  de floroglucinol, um diâmetro mínimo de 6,91 mm, no entanto, na maior dose, obteve o maior diâmetro (8,32mm). Nenhum tratamento diferiu da testemunha em relação ao diâmetro (Figura 1B).

Conforme a figura 1C, na ausência do floroglucinol, foi obtido o maior número de raízes (0,8). Embora a indução da raiz tenha sido observada, todos os tratamentos diferiram da testemunha (3,86), a qual foi superior aos demais. Para a variável comprimento de raízes, observa-se o comportamento quadrático, que, por meio da derivação, a dose 128  $\mu\text{M}$  de floroglucinol conferiu 0,06mm no comprimento de raízes. Dentre as concentrações, na ausência do floroglucinol, obteve-se o maior comprimento de raízes (1,85mm). Todos os tratamentos diferiram da testemunha, que, por sua vez, apresentou um comprimento (7,63mm) superior aos demais (Figura 1D).

O número de folhas apresentou ponto de mínimo, no qual, por meio da derivação da equação de regressão, a dose 122,5  $\mu\text{M}$  conferiu, no número de folhas, o valor mínimo de 0,19. Novamente, a ausência do floroglucinol promoveu o desenvolvimento do maior número de folhas (3,6) (Figura 1E).

Para a variável comprimento de folhas, em função das concentrações, esta apresentou ponto de mínimo, que, por meio da derivação, indicou a dose 85,93  $\mu\text{M}$  de floroglucinol; propiciou um comprimento mínimo de 6,49 mm, em contrapartida, a maior dose foi responsável pelo maior comprimento (15,76mm) (Figura 1F).



**Figura 1.** Gráficos de dispersão, obtidos a partir de curvas de regressão para altura (A), diâmetro (B), número de raízes (C), comprimento de raízes (D), número de folhas (E) e comprimento de folhas (F), em bananeira Grand Naine, em função de concentrações de floroglucinol aos 60 dias.

## 4 DISCUSSÃO

### Experimento I

No presente estudo, fica evidente que, mesmo na ausência de floroglucinol, a interação da auxina com citocinina foi suficiente para estimular o crescimento da parte aérea dos explantes das cultivares de bananeira. Apenas o diâmetro do pseudocaule apresentou incremento linear em função do aumento da dose do floroglucinol. Considerando as diversas características associadas à qualidade de uma muda

micropropagada, o efeito positivo apenas para o diâmetro deve ser considerado, visto que quanto maior o diâmetro de explantes maior capacidade de sobrevivência durante o processo de aclimatização.

Comprovado por diversos estudos, evidencia-se que o floriglucinol exerceu efeito positivo no enraizamento de outras culturas inclusive a banana. Londe *et al.*, (2017) demonstraram que a dose de 200  $\mu\text{M}$  promoveu o crescimento e alongamento das raízes na cultivar Grand Naine. Buthuc-Keul e Deliu (2001) afirmam que, para a indução e crescimento de raízes em *Arnica montana*, a dose de 600  $\mu\text{M}$  foi melhor que o controle. O enraizamento de *Prunus avium* L. foi melhor, usando a dose de 1000  $\mu\text{M}$  de floriglucinol (FEENEY *et al.*, 2007).

Verifica-se que, nos primeiros 14 dias de incubação, ocorre a indução radicular e, após esse período, ocorre somente o crescimento em comprimento das raízes (COSTA *et al.*, 2008). Neste trabalho, o período de enraizamento foi de 30 dias, o que pode ter induzido crescimento das raízes semelhante entre a testemunha e os tratamentos. Isso indica que, para esta característica nesta cultivar, não é necessário incrementar o meio com floriglucinol. Sugere-se que a capacidade de induzir raiz do floriglucinol não é universal. Em vez disso, é um parâmetro experimental que precisa ser testado para genótipos individuais (TEIXEIRA DA SILVA *et al.*, 2013).

O meio MS sem hormônio, todavia, proporcionou comprimento de raízes superiores aos demais tratamentos, evidenciando que, neste trabalho, a adição do floriglucinol potencializou o número de raízes e não o seu alongamento, mostrando que somente a auxina junto com a citocinina endógena é capaz de promover esse comprimento.

Essa redução inicial no desenvolvimento da planta observada, no presente estudo, pode ser explicada pela ausência da competência, em que concentrações menores do floriglucinol não desencadearam as rotas bioquímicas necessárias para que ocorressem os processos de divisão e diferenciação celular. Segundo Lemos (2010), a competência de uma célula pode não ser inata ou não estar presente no momento em que ela foi excisada da planta, porém ela pode ser induzida *in vitro* por meio de reguladores de crescimento presentes no meio de cultura.

Este composto fenólico possibilita novas oportunidades para uso como um regulador de crescimento de plantas, na propagação clonal de brotos para armazenamento em curto, médio ou longo prazo, como indutor de enraizamento, para acelerar o crescimento e desenvolvimento de plantas e como meio de reduzir a hiperidricidade e fortalecer o tecido pela lignificação em sistemas de biorreatores (TEIXEIRA DA SILVA *et al.*, 2013). Entretanto, para a cultivar Prata Gorutuba, novos estudos precisam ser conduzidos com o objetivo de elucidar as possíveis ações e interações deste regulador, do genótipo e do sistema de multiplicação.

## Experimento II

Observa-se que a testemunha foi melhor que os tratamentos, para todas as características analisadas, com exceção do diâmetro na dose de 200  $\mu\text{M}$  de floriglucinol. Contudo resultados semelhantes foram observados com Grand Naine, promovendo maior altura na dose 200  $\mu\text{M}$  de floriglucinol (LONDE *et al.*, 2017).

Alguns trabalhos encontrados na literatura relacionam o maior crescimento da parte aérea de plântulas micropropagadas de bananeira, em avaliações *in vitro*, com a composição nutricional do meio

de cultivo (CAMOLESI, 2010). De acordo com Mehrotra *et al.* (2007), o meio líquido permite o contato próximo com o tecido, o que estimula e facilita a absorção de nutrientes e de reguladores de crescimento, levando ao melhor desenvolvimento de parte aérea e ao crescimento radicular. Outro fator que parece favorecer o crescimento dos explantes nos biorreatores é a constante renovação do ar, durante o período de transferência do meio, eliminando os possíveis gases prejudiciais produzidos pelo metabolismo das plantas (LEMOS *et al.*, 2001).

Londe *et al.* (2017) afirmam que, para a multiplicação e alongamento de raízes, a dose de 200  $\mu\text{M}$  de floroglucinol mostrou-se mais responsiva à indução de raiz, à medida que as concentrações mais altas inibem crescimento e multiplicação de raízes.

A ausência do floroglucinol no meio permite maior número de folhas, sinalizando que a associação dos teores de auxina e citocinina são suficientes para promover esse desenvolvimento. O número de folhas é uma característica importante e, possivelmente, mudas com maior número de folhas têm maiores índices de pegamento no campo, pois as folhas são as estruturas responsáveis pela captação de energia solar e pela produção de matéria orgânica por fotossíntese (MOREIRA, 2006).

A ausência de brotações pode ser explicada pela baixa concentração de BAP utilizada ou até mesmo pela ausência de competência das células. Londe *et al.* (2017), trabalhando com essa mesma cultivar, porém com dose mais alta de citocinina (13,2  $\mu\text{M}$  6-BA) e dose de floroglucinol sem combinação, obtiveram 2,32 brotos. Este fitorregulador é responsável por induzir a formação de grandes números de brotos e alta taxa de multiplicação em muitos sistemas de micropropagação (CALDAS *et al.* 1998).

Portanto concentrações de floroglucinol precisam ser ajustadas, de acordo com diferentes cultivares de banana, bem como para outras culturas ou espécies de plantas. Isto é evidenciado por vários estudos. Bairwa *et al.* (2012) relataram que o floroglucinol associado a BA e AIA promoveram o alongamento de brotos em *Capsicum annum* L. utilizando a dose de 39,64  $\mu\text{M}$ . Teixeira da Silva *et al.*, (2013) pontuam que o floroglucinol associado a uma citocinina pode melhorar o desenvolvimento e a proliferação de brotos. Giridhar *et al.* (2005) demonstraram que o alongamento de brotos de *Decalepis hamiltonii* foi favorecido na dose de 5,6  $\mu\text{M}$  de BA e 200  $\mu\text{M}$ . Também estudos mostraram eficácia no enraizamento. A indução e alongamento de raízes foram observados por Ceasar *et al.* (2010), usando 3,97  $\mu\text{M}$  de floroglucinol em *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. Giridhar *et al.* (2005) usaram 5,38  $\mu\text{M}$  de ANA combinado com 400  $\mu\text{M}$  de floroglucinol e obtiveram efeito positivo sobre o enraizamento de *Decalepis hamiltonii*. O único trabalho encontrado para banana foi o de Londe *et al.*, (2017), com resultados satisfatórios para a multiplicação e enraizamento na dose de 200  $\mu\text{M}$  de floroglucinol. Assim, o intervalo de concentração selecionada para este estudo baseou-se na literatura existente.

Comparando os dois experimentos, pode-se observar que a testemunha obteve resultados superiores aos demais tratamentos, logo o uso do floroglucinol juntamente com auxina e citocinina não se faz necessário neste estudo, proporcionando a redução de custos com as mudas micropropagadas.

Este foi o primeiro trabalho, utilizando biorreatores com essas dosagens, sendo assim, é um trabalho inovador para a bananicultura. Estudos adicionais precisam ser realizados, no intuito de abordar os efeitos do floroglucinol na morfogênese da planta, bem como para outras cultivares de banana.

Estes resultados fornecem dados que podem servir como informações preliminares para a continuação e melhoria de protocolos de micropropagação de banana.

## 5 CONCLUSÃO

O floriglucinol tem influência sobre o desenvolvimento das cultivares Prata Gorutuba e Grand Naine, no entanto a testemunha apresenta resultados melhores do que as concentrações de floriglucinol.

## REFERÊNCIAS

- BAIRWA, VK; KACHHWAHA, S; KOTHARI, SL. 2012. Floriglucinol mediated shoot bud elongation in *Capsicum annum* L. **National Academy Science Letters** 35:331–335.
- BUTHUC-KEUL, AL; DELIU, C. 2001. Clonal propagation of *Arnica montana* L., a medicinal plant. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant** 37:581–585
- CALDAS, LS; HARIDASAN, P; FERREIRA, ME. 1998. Nutritional means. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Tissue Culture and Genetic Transformation of Plants**. Brasília: Embrapa Hortaliças, v.1, p.87-132
- CAMOLESI, MR; FARIA, RT; NEVES, CSVJ; MARTINS, NA. 2010. Volume of the flask and consistency of the culture medium in the in vitro multiplication of the banana tree 'Maçã'. **Ciência Rural**, 40:255-260.
- CEASAR, SA; MAXWELL, SL; PRASAD, KB; KARTHIGAN, M; IGNACIMUTHU, S. 2010. Highly efficient shoot regeneration of *Bacopa monnieri* (L.) using a two-stage culture procedure and assessment of genetic integrity of micropropagated plants by RAPD. **Acta Physiologiae Plantarum** 32:443–452
- COSTA FHS; PASQUAL, M; PEREIRA, JES; RODRIGUES, FA; MIYATA, LY. 2008. Relationship between in vitro rooting time and the growth of banana plants in acclimatization. **Revista Brasileira de Fruticultura** 30(1):31-37.
- FEENEY, M; BHAGWAT, B; MITCHELL, JS; LANE, WD. 2007. Shoot regeneration from organogenic callus of sweet cherry (*Prunus avium* L.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 90:201–214
- GEORGE, E.F. 1993. **Plant propagation by tissue culture**. London: The technology Exegetics, 574p.
- GIRIDHAR, P.; GURURAJ, HB.; RAVISHANKAR, GA. 2005. *In vitro* shoot multiplication through shoot tip cultures of *Decalepis hamiltonii* Wight & Arn., a threatened plant endemic to Southern India. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant** 41:77–80
- LEMOS, EEP. 2010. *In vitro* plant culture. Cap 4 organogenesis. 103-122. Embrapa.
- LEMOS, E. E. P. de; FERREIRA, M. de S.; ALENCAR, L.M.C. de; OLIVEIRA, J.G.L.; MAGALHAES, V.S. 2001. Micropropagation of banana clones cv. Earth in temporary immersion bioreactor. **Revista Brasileira de Fruticultura** 23: 482-487.
- LONDE, LCN; VENDRAME, WA; OLIVEIRA, ABDe; SANAIEY, M; COSTA, AM. 2017. Floriglucinol is Effective for in vitro Growth and Multiplication of *Musa accuminata* Cv. Grand Naine Shoots and Roots. **Journal of Advances in Biology e Biotechnology**. 13(2): 1-8.
- MAGYAR-TÁBORI, K; DOBRÁNSZKI, J; BULLEY, SM; TEIXEIRA DA SILVA, JÁ; HUDÁK, L. 2010. *In vitro* shoot regeneration in apple—role of cytokinins. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 101:251–267
- MEHROTRA, S; GOEL, MK; KUKREJA, AK; MISHRA, BN. 2007. Efficiency of liquid culture systems over conventional micropropagation: A progress towards commercialization. **African Journal of Biotechnology**, 6:1484-1492.

MOREIRA, RS; LICHTENBERG, LA. Banana 'Enxerto', uma brasileira centenária. SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE BANANICULTURA, 6., 2004, Joinville, **Anais...** Sistemas alternativos de produção. Itajaí: SBF/ACAFRUTA, 2006. 243-250.

MURASHIGE T, SKOOG F. 1962A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. **Physiol Plant** 15:473–497.

SALOMÃO, LCC; SIQUEIRA, DLDE; LINS, LCRDE; CECON, PR. 2016. Growth and production of banana (*Musa* spp. AAB) 'Prata-Anã', originating from rhizome and micropropagated. **Revista Ceres** 63(3).

SARKAR, D; NAIK, PS. 2000. Floriglucinol enhances growth and rate of axillary shoot proliferation in potato shoot tip cultures *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 60:139–149

SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO DE MINAS GERAIS. 2017. **Banana**. Disponível em: <  
[http://www.agricultura.mg.gov.br/images/Arq\\_Relatorios/Agricultura/2017/Mar/perfil\\_banana\\_mar\\_2017.pdf](http://www.agricultura.mg.gov.br/images/Arq_Relatorios/Agricultura/2017/Mar/perfil_banana_mar_2017.pdf)>. Acesso em: 10 jan. 2018.

TEIXEIRA, L. A. J.; NETO, J. E. B. 2011. Agronomic behavior of banana 'Silver-dwarf' according to the type of seedling. **Revista Brasileira de Fruticultura** 33: 89-95.

TEIXEIRA DA SILVA, J. A.; DOBRÁNSZKI, J.; ROSS S. 2013. Floriglucinol in plant tissue culture. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 49, p. 1-16.

ZIMMERMAN, R. H. 1984. Rooting apple cultivars in vitro: Interactions among light, temperature, floriglucinol and auxin. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 3: 301-311.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O floriglucinol associado à citocinina e à auxina influencia no desenvolvimento das cultivares Prata Gorutuba e Grand Naine, mostrando diferenças sob os meios empregados.

Este é o primeiro estudo a relatar o uso de floriglucinol para a multiplicação *in vitro* de banana em meio líquido, semissólido e biorreatores de imersão temporária. Estudos adicionais devem ser realizados, no intuito de abordar os efeitos do floriglucinol na morfogênese da planta, bem como para outras cultivares de banana e até mesmo outras culturas.

Estes resultados, também, fornecem dados valiosos que podem servir como informações preliminares para a continuação e melhoria da micropropagação *in vitro* de banana.