

# EFEITOS DA BENZILAMINOPURINA E ÁCIDO INDOLE-3-ACÉTICO SOBRE A PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE *GERBERA JAMESONII* BOLUS EX. HOOK CV. APPELBLOESEM<sup>1</sup>

MÁRCIO H.P. BARBOSA<sup>2</sup>, MOACIR PASQUAL<sup>3</sup>, JOSÉ E.B.P. PINTO<sup>4</sup>,  
EDUARDO F. ARELLO<sup>5</sup> e INÁCIO DE BARROS<sup>6</sup>

**RESUMO** - A gérbera (*Gerbera jamesonii* Bolus ex Hook) é uma espécie ornamental cujas flores são utilizadas para corte e, assim, vendidas no comércio. Com o objetivo de avaliar a taxa de multiplicação *in vitro* da cultivar Appelbloesem, brotações com três folhas foram colocadas em meio MS (Murashige & Skoog 1962) suplementado com sulfato de adenina (80 mg/l), tirosina (100 mg/l), 3% de sacarose, 7,0 g/l de difcobacto ágar e os reguladores de crescimento 6-benzilaminopurina (BAP) à 0,0; 1,0; 2,0 e 4,0 mg/l e ácido indole-3-acético (AIA) a 0,0; 0,25; 0,5 e 1,0 mg/l. A avaliação foi feita quarenta dias após a inoculação, levando-se em consideração o número médio de folhas novas com comprimento superior a 1 cm por explante inicial (broto com três folhas). Melhores resultados, quanto à taxa de multiplicação, foram obtidos com o nível de 1 mg/l de BAP independentemente do nível de AIA utilizado. Houve formação de raízes nos tratamentos sem BAP.

Termos para indexação: espécie ornamental, flores para corte, cultura de tecidos, multiplicação de plantas, reguladores de crescimento.

## EFFECTS OF BENZILAMINOPURINE AND INDOLE-3-ACETIC ACID ON *IN VITRO* PROPAGATION OF *GERBERA JAMESONII* BOLUS EX HOOK CV. APPELBLOESEM

**ABSTRACT** - *Gerbera jamesonii* Bolus ex Hook is an ornamental species producing flowers that are cut and sold in the market. *In vitro* multiplication of cv. Appelbloesem was studied, culturing 3-leaves buds in MS medium (Murashige & Skoog 1962) supplemented with adenine sulphate (80 mg/l), tyrosine (100 mg/l), sucrose (3%), difcobacto agar (7.0 g/l) and the growth regulators 6-benzilaminopurine (BAP) (0.0; 1.0; 2.0 and 4.0 mg/l), and indole-3-acetic acid (IAA) (0.0; 0.25; 0.5 and 1.0 mg/l). The evaluation was realized forty days after inoculation, on mean number of new leaves longer than 1 cm in the initial explant. The multiplication rate was higher in 1.0 mg/l of BAP, disregarding the level of IAA. Roots were formed in treatments without BAP.

Index terms: ornamental species, cut flowers, tissue culture, growth regulators, plant multiplication.

## INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem sido crescente o interesse pelas gérberas, pois, suas flores, utilizadas para corte, apresentam boa durabilidade e uma gama de cores que pode satisfazer os mercados mais exigentes. As gérberas cultivadas atualmente são híbridos procedentes de *Gerbera jamesonii*. Pertencem à família das compostas e são nativas da Ásia e África do Sul.

Existem dois métodos para a propagação dessa espécie. Através de sementes - mas, por

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 20 de maio de 1992.

<sup>2</sup> Eng.-Agr., doutorando no curso de Fitot. da Esc. Sup. de Agric. de Lavras (ESAL), Caixa Postal 37, CEP 37200 Lavras, MG. Bolsista do CNPq.

<sup>3</sup> Eng.-Agr., Dr., Prof.-Adj., ESAL. Bolsista do CNPq.

<sup>4</sup> Eng.-Agr., Ph.D., Prof.-Adj., ESAL. Bolsista do CNPq.

<sup>5</sup> Eng.-Agr., M.Sc., Caixa Postal 170, CEP 13825 Holambra, SP.

<sup>6</sup> No curso de Agron. ESAL.

ser uma planta de polinização cruzada, este método não é utilizado comercialmente -; o principal método é o vegetativo, porém possui a desvantagem de acumular doenças durante as gerações em que é propagada; sabe-se, também, que o cultivo da gérbera é semi-perene e que os métodos de propagação por divisão de touceiras e por corte do rizoma são ineficientes, produzindo, respectivamente, em média, 5 e 40 mudas por ano (Chu & Huang 1983). Sendo assim, dada a grande demanda de mudas para instalação e renovação do campo de cultura, somente os métodos convencionais de propagação e tratamentos fitossanitários não são suficientes para solucionar estes problemas.

A micropropagação é uma das principais aplicações da cultura de tecidos, especialmente para plantas de difícil propagação pelos métodos convencionais, como é o caso da gérbera. Segundo Bouziques (1987), a violeta e a gérbera são responsáveis por mais de 70% dentre quarenta espécies de plantas ornamentais produzidas pela França através da cultura de tecidos.

A propagação vegetativa *in vitro* de determinada espécie pode ser conduzida através da multiplicação de brotação por sucessivas subculturas, ou seja, as gemas axilares são estimuladas a crescerem formando tufos de brotos, os quais são subdivididos dando origem a novos explantes, que, por sua vez, repetem o mesmo processo.

O objetivo deste trabalho foi identificar os melhores níveis de BAP e AIA, que maximizem a multiplicação *in vitro* através de brotações axilares de *Gerbera jamesonii* Bolus ex Hook cv. Appelbloesem.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido utilizando a cultivar Appelbloesem de *Gerbera jamesonii* Bolus ex Hook. O material vegetativo inicial (capítulos jovens) foi obtido em Holambra, SP, através do produtor agrícola Adriano Antônio Gervásio Van Vliet.

Brotações adventícias obtidas a partir do cultivo *in vitro* de capítulos jovens foram multiplicadas por cinco vezes até ser atingida uma quantidade suficiente para instalação do ensaio. Para tanto, empregou-se o mé-

todo descrito por Murashige et al. (1974), utilizando o meio MS (Murashige & Skoog 1962), suplementado com cinetina (5 mg/l) e AIA (0,5 mg/l). Cada explante inicial (broto) apresentava três folhas, e estes receberam inóculo em meio MS suplementado com sulfato de adenina (80 mg/l), tirosina (100 mg/l), 3% de sacarose e 7,0 g/l de difcobacto ágar. Foram também acrescentados os reguladores de crescimento BAP e AIA, num fatorial 5 x 4. Os fatores foram constituídos pelos reguladores de crescimento e os respectivos níveis pelas dosagens: 0,0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg/l (BAP) e 0,0; 0,25; 0,5 e 1,0 mg/l (AIA).

O pH do meio de cultura foi aferido para 5,8 antes do processo de autoclavagem (120°C - 1 atm - 20 minutos). A cultura foi colocada para desenvolver em sala de crescimento apropriada, nas seguintes condições: fotoperíodo de 16 horas sob luz branca fria (2.500 lux) e temperatura de 26° ± 1°.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado e os tratamentos foram compostos de três repetições, sendo cada repetição representada pela média de três tubos de ensaio (25 x 150 mm) com um explante cada.

A avaliação foi feita quarenta dias após a inoculação, levando-se em consideração o número médio de novas folhas com comprimento maior do que 1 cm por explante inicial.

A utilização do parâmetro número de novas folhas por explante inicial foi preferida em relação ao uso de número de brotos por explante inicial, dada a impossibilidade de caracterizar-se o número de folhas que constituirá uma brotação. Sabe-se que a multiplicação de gérbera ocorre em forma de "tufos" e após as subdivisões são obtidos novos explantes (brotações) com número de folhas variáveis. Desta forma, para definir-se uma taxa de multiplicação, estabeleceu-se que um broto tivesse três folhas.

Foram feitas também outras duas observações, aos 68 dias após a inoculação, para o tratamento que apresentou a melhor taxa de multiplicação, com a finalidade de definir um período de passagem, para que se possa fazer novo subcultivo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando o número total de folhas com mais de 1 cm de comprimento, a análise de variância mostrou significância ao nível de 1% para o fator citocinina (BAP) e de 5% para o fator auxina (AIA) e para a interação entre os dois fatores (Tabela 1).

**TABELA 1.** Quadrados médios para número médio de folhas (>1 cm) por explante de *Gerbera jamesonii* Bolus ex Hook cv. Appelbloesem.

Causas da variação	Quadrados médios
BAP	30,23**
AIA	2,58*
BAP x AIA	2,00*
ERRO	0,81
C.V. (%)	11,25

\*\* Significativo ao nível de 1%.

\* Significativo ao nível de 5%.

De modo geral, o nível de citocinina (BAP) que possibilitou a maximização do número médio em 10,04 novas folhas por explante inicial, foi 1,0 mg/l (Tabela 2), o que corresponde à taxa média de multiplicação de 1:3,34 brotos, considerando que cada broto seja compreendido por três folhas.

Os dados obtidos concordam com a afirmação de Pierik et al. (1982) de que é fundamental a utilização de citocinina no meio de cultura para obter ótimas taxas de multiplicação, no entanto, a escolha da citocinina e da

concentração utilizada dependerá da cultivar considerada. Há similaridade nas respostas obtidas por Schiva et al. (1982), que obtiveram melhor taxa de multiplicação com os níveis 2 e 10 mg/l de cinetina para as cultivares Peter e Tunisia, respectivamente, e por Hempel et al. (1985), que conseguiram ótima taxa de multiplicação de brotos da cv. Marleen utilizando, também, somente a cinetina (5 mg/l).

Por outro lado, empregando conjuntamente uma auxina (AIA - 0,2 mg/l) e uma citocinina (cinetina - 7 mg/l), Petru & Matous (1984) conseguiram bons resultados na multiplicação da cultivar Lada. De maneira semelhante, Laliberté et al. (1985), trabalhando com as cultivares Mardi Gras e Pastourelle, obtiveram melhores taxas de multiplicação utilizando a citocinina BA (2 mg/l) associada à auxina AIA (0,1 mg/l).

Em termos gerais, o fator auxina (AIA) não influenciou no número total médio de folhas novas com comprimento maior do que 1 cm por explante inicial (Tabela 2). De modo semelhante, Murashige et al. (1974) concluíram que não é necessário a utilização da auxina em associação com a citocinina no meio de multiplicação, embora a concentração de 0,5 mg/l de AIA tenha sido selecionada e incluída nesta mesma fase. Isto porque esses autores acreditam que a presença do AIA parece aumentar o vigor das

**TABELA 2.** Indução de folhas novas com comprimento maior do que 1 cm por explante inicial de *Gerbera jamesonii* Bolus ex Hook cv. Appelbloesem em diferentes concentrações de BAP e AIA.

BAP (mg/l)	AIA (mg/l)				Média
	0,00	0,25	0,50	1,00	
0,00	6,00 aC	6,00 aB	5,57 aB	5,43 aD	5,75 D
0,50	7,27 bcBC	6,40 cB	9,50 aA	8,63 abBC	7,95 BC
1,00	9,97 aA	9,47 aA	9,53 aA	11,20 aA	10,04 A
2,00	8,20 aAB	7,90 aAB	9,83 aA	9,10 aAB	8,76 B
4,00	7,90 aABC	7,57 aAB	7,20 aB	7,27 aCD	7,48 C
Média	7,87 a	7,47 a	8,33 a	8,33 a	

Médias seguidas pela mesma letra (minúscula para as concentrações de AIA e maiúsculas para BAP) não diferem entre si pelo teste Tukey -5%.

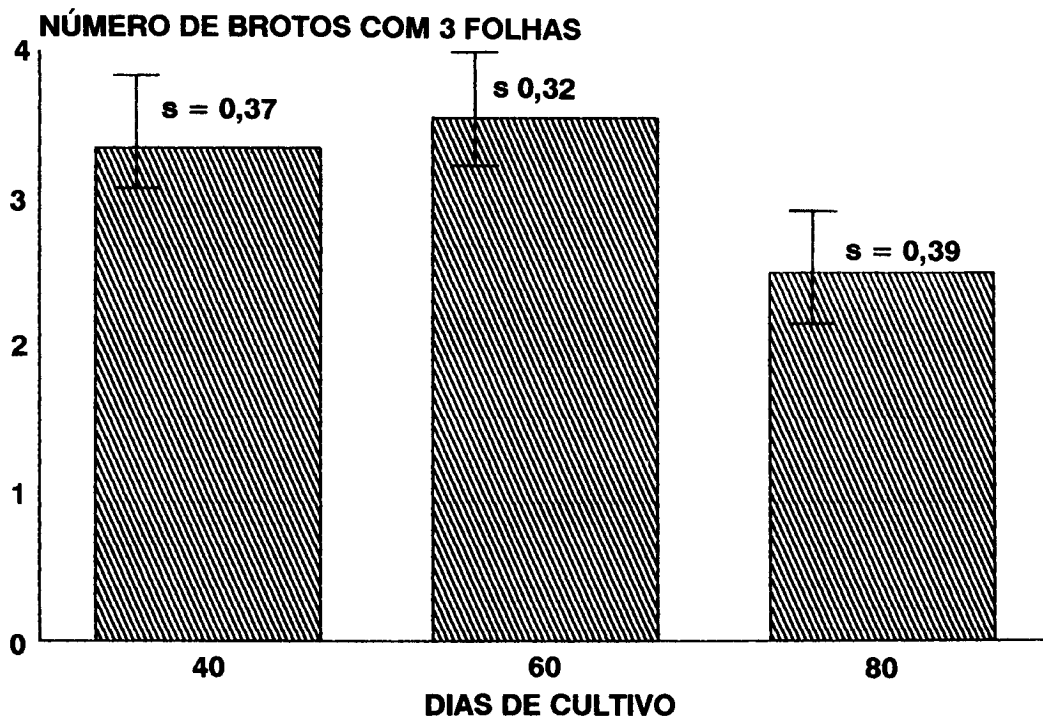
plântulas. De maneira contrária, Laliberté et al. (1985) acreditam que esse vigor dos brotos, observado também nesse estudo, seja resultante da adição ao meio MS de sulfato de adenina (80 mg/l) e ou tirosina (100 mg/l), as quais por sua vez, apresentam efeitos similares. É oportuno observar que o meio de cultura utilizado por Murashige et al. (1974) apresentava o sulfato de adenina e tirosina nas mesmas concentrações utilizadas por Laliberté et al. (1985).

Para os tratamentos sem a citocinina (BAP), foi observada a percentagem de 100% de brotos enraizados nos diversos níveis de AIA utilizados. Outro fato a ser observado é que o vigor dessas plântulas foi superior às brotações obtidas nos tratamentos com presença de BAP. Este maior vigor observado pode ser definido como um aumento da superfície foliar das novas folhas com pecíolos longos e rígidos.

Houve leve formação de calos na parte basal dos explantes nos tratamentos onde a citocinina

estava presente, o que está de acordo com as observações de Pierik et al. (1982), segundo as quais para determinadas cultivares as concentrações mais elevadas de cinetina (5 e 10 mg/l) resultaram em intensa formação de calos na base dos brotos.

Para obter máxima eficiência na taxa de multiplicação de gérbera *in vitro* é necessário que se determine um período de passagem, para que seja feita uma nova subcultura. Desta forma, observou-se que com cinco semanas de cultivo o número de brotações regeneradas foi suficiente para obter altas taxas de multiplicação. Verificou-se, também, que com mais de dois meses de cultivo os tecidos apresentavam claramente perda de vigor e deterioração (Fig. 1). Esses resultados foram semelhantes aos obtidos por Murashige et al. (1974), em que esses autores determinaram como padrão o período de passagem de quatro semanas, e observaram que com mais de nove semanas de cultivo os tecidos se deterioravam.



**FIG. 1.** Número médio de brotações com três folhas de *Gerbera jamesonii* Bolus ex Hook cv. Appelbloesem nos diferentes dias de cultivo para o nível de 1 mg/l de BAP em meio MS; o número acima da coluna refere-se ao erro padrão.

A utilização do sistema de propagação *in vitro* através de brotações axilares empregando as concentrações ideais dos reguladores de crescimento, determinadas experimentalmente, poderá contribuir positivamente para a produção comercial de gérbera com plantas idênticas e sadias.

### CONCLUSÕES

1. Maior taxa de multiplicação para a cultivar Appelbloesem pode ser obtida com o uso de BAP (1,0 mg/l) e com período de subcultivo de até cinco semanas.

2. Brotos enraizados são obtidos sem o uso de BAP.

### REFERÊNCIAS

BOUZIGUES, P. La production de vitroplants pour l'horticulture ornementale en France. *Revue Horticole*, Paris, v.277, p.15-23, 1987.

CHU, C.-Y.; HUANG, M.-C. *In vitro* formation of gerbera (*Gerbera hybrida* Hort.) plantlets through excised scape culture. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, Tokyo, v.52, n.1, p.45-50, 1983.

HEMPEL, M.; PETOS-WITKOWSKA, B.; TYMOSZUK, J. The influence of cytokinins on

multiplication and subsequent rooting of gerbera *in vitro*. *Acta Horticultural*, Skierniewice, v.167, p.301-305, 1985.

LALIBERTÉ, S.; CHRÉTIEN, L.; VIETH, J. *In vitro* plantlet production from young capitulum explants of *Gerbera jamesonii*. *HortScience*, Alexandria, v.20, n.1, p.137-139, 1985.

MURASHIGE, T.; SERPA, M.; JONES, J.B. Clonal multiplication of gerbera through tissue culture. *HortScience*, Alexandria, v.9, n.3, p.175-180, 1974.

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

PETRU, E.; MATOUS, J. *In vitro* cultures of gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus). *Zahradnictví*, Prague, v.11, n.4, p.309-314, 1984.

PIERIK, R.L.M.; STEEGMANS, H.H.M.; VERHAEGH, J.A.M.; WOUTERS, A.N. Effect of cytokinin and cultivar on shoot formation of *Gerbera jamesonii* *in vitro*. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, Wageningen, v.30, n.4, p.341-346, 1982.

SCHIVA, T.; LERCARI, B.; GIUSTA, R. Micropropagation of gerbera: variable response to *in vitro* culture. *Annali dell'Istituto Sperimentale per la Floricoltura*, San Remo, v.13, n.1, p.56-57, 1982.