

PROLIFERAÇÃO *IN VITRO* DO HÍBRIDO EXPERIMENTAL DE GÉRBERA DTCSII EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE 6-BENZILAMINOPURINA

Alessandro Rosa **NASCIMENTO**^{1*}; Lorrana Karen Souza **MARQUES**¹; Adriana Lima Alves **SANTANA**¹; Anna Christina Passos **MENEZES**²; Joselita Cardoso de **SOUZA**²

¹Graduando em Engenharia Agrônômica. Avenida Eduard Chastinet, s/n, Universidade do Estado da Bahia - Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais, Campus III, CEP: 48904-711, São Geraldo, Juazeiro-BA.

*Autor correspondente. E-mail: alessandro7600@hotmail.com.

²Docente da Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais, Campus III, Juazeiro, BA.

Recebido: 18.10.2019 Aceito: 05.05.2020

<http://doi.org/10.29327/ouricuri.9.2-7>

Resumo: A resposta das plantas de gérbera (*Gerbera jamesonii* Bolus ex Hooker F.) *in vitro* depende do tipo de explante utilizado, da cultivar, dos hormônios de crescimento e da composição do meio de cultura. Deste modo, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar, na fase de proliferação, as respostas do híbrido experimental DTCSII a diferentes concentrações da citocinina sintética 6-Benzilaminopurina (BAP). O experimento foi conduzido durante os meses de março e abril de 2019 no Laboratório de Biotecnologia da Universidade do Estado da Bahia, em Juazeiro-BA (09°25'43,6" S, 40°32'14" W, 384 m) em delineamento inteiramente casualizado, dispondo de quatro tratamentos, cinco repetições e três parcelas. O meio de cultura foi constituído pelos sais de Murashige e Skoog (MS) e vitaminas de White, acrescidos de 7 e 30 g L⁻¹ de ágar e sacarose, respectivamente, diferindo nas concentrações do regulador BAP (0,00 (controle); 0,75; 1,00 e 1,50 mg L⁻¹). Após 42 dias, foram avaliadas biomassa, número de brotações e de folhas. Também foram feitas observações quanto a características como: formação de raízes, deformação nas folhas e presença de calos. Houve diferenças significativas para todas as variáveis avaliadas. As concentrações de 1,50 e 1,00 mg L⁻¹ de BAP proporcionaram os melhores resultados em todas as variáveis, não diferindo estatisticamente, entretanto, na concentração de 1,00 mg L⁻¹ foram obtidas brotações de melhor qualidade. Na ausência do regulador BAP, houve emissão de raízes, sem indução de brotações.

Palavras-chave: Gérbera híbrida; Micropropagação; Regulador Vegetal.

***IN VITRO* PROLIFERATION OF THE GERBERA EXPERIMENTAL HYBRID DTCSII AT DIFFERENT CONCENTRATIONS OF 6-BENZYLAMINOPURINE**

Abstract: The responses of the gerbera plants (*Gerbera jamesonii* Bolus ex Hooker F.) *in vitro* depend on the used explants types, the cultivars, the growth hormones and of the culture medium composition. In this way, this work was developed with the aim of evaluate, in the proliferation phase, the responses of the gerbera experimental hybrid DTCSII at different concentrations of the synthetics cytokinin 6-Benzylaminepurine (BAP). The experiment was conducted during the months of the March and April of 2019 at the Laboratory of Biotechnology of the State University of Bahia, in Juazeiro-BA (09°25'43.6" S, 40°32'14" W, 384 m) in completely randomized design, featuring four treatments, with five repetitions and three plots. The culture medium was constituted by Murashige and Skoog (MS) salts and White vitamins, with 7 and 30 g L⁻¹ of agar and sucrose respectively, differing in BAP regulator concentration (0.00 (Control); 0.75; 1.00 e 1.50 mg L⁻¹). After 42 days were evaluated biomass, number of shoots and leaves. It were also made observations how much the features as roots formation, leaves deformation and presence of

callus. There were significant differences to all evaluated variables. The concentrations of 1.50 and 1.00 mg L⁻¹ BAP provided the best results in all variables, not differing statistically, however, in the concentration of 1.00 mg L⁻¹ better shoots were obtained. In the absence of BAP regulator, there was root emission, without induction of shoots.

Key words: Gerbera hybrid; Micropropagation; Vegetable Regulator.

PROLIFERACIÓN IN VITRO DEL HÍBRIDO EXPERIMENTAL GERBERA DTCSII EN DIFERENTES CONCENTRACIONES DE 6-BENCILAMINOPURINA

Resumen: La respuesta de las plantas de gerbera (*Gerbera jamesonii* Bollus ex Hooker F.) *in vitro* depende del tipo de explante utilizado, el cultivar, las hormonas de crecimiento y la composición del medio de cultivo. Por lo tanto, este trabajo se desarrolló para evaluar, en la fase de proliferación, las respuestas del DTCSII híbrido experimental a diferentes concentraciones de citocinina sintética 6-bencilaminopurina (BAP). El experimento se realizó durante marzo y abril de 2019 en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Estatal de Bahia, Juazeiro-BA (09°25'43.6" S, 40°32'14" O, 384 m) en un diseño completamente al azar, teniendo cuatro tratamientos, cinco repeticiones y tres parcelas. El medio de cultivo consistió en sales de Murashige y Skoog (MS) y vitaminas de White más 7 y 30 g de agar L⁻¹ y sacarosa respectivamente, que diferían en las concentraciones del regulador BAP (0,00 (Control); 0,75; 1,00 y 1,50 mg L⁻¹). Después de 42 días, se evaluó la biomasa, el número de brotes y rojas. También se hicieron observaciones con respecto a características tales como: formación radicular, deformación foliar y presencia de callos. Hubo diferencias significativas para todas las variables evaluadas. Las concentraciones de 1,50 y 1,00 mg L⁻¹ BAP proporcionaron los mejores resultados en todas las variables, sin diferir estadísticamente, sin embargo, en la concentración de 1,00 mg L⁻¹ se obtuvieron mejores brotes. En ausencia de regulador BAP, hubo emisión de raíz, sin inducción de brotes.

Palabras clave: Gerbera híbrida; Micropropagación; Regulador de Plantas.

INTRODUÇÃO

A *gérbera* (*Gerbera jamesonii* Bollus ex Hooker F.) é uma planta ornamental, perene, herbácea, pertencente à família Asteraceae e originária da África do Sul. Possui formas e colorações variadas que agradam aos consumidores, sendo considerada uma importante flor de corte. A popularização das variedades de *gérbera* faz com que anualmente sejam produzidas muitas cultivares. Assim, tendo em vista o atendimento da demanda por plantas de elite (Rashmi et al., 2018), torna-se necessário o desenvolvimento de tecnologias que permitam a rápida reprodução dessas cultivares (Son et al., 2011). Dessa forma, a propagação massal de mudas clonais de *gérbera* tem sido realizada pelo cultivo *in vitro* no qual a micropropagação permite a rápida reprodução de cultivares em um curto período de tempo.

Na micropropagação, a indução de brotações requer a presença de hormônios vegetais, substâncias que nas plantas regulam o crescimento e o desenvolvimento (Machakoya et al., 2008; Taiz et al., 2017). Dentre eles, as citocininas possuem um importante papel na morfogênese da *gérbera* (Son et al., 2011), contudo, em doses elevadas podem levar ao aparecimento de características indesejáveis como hiperidricidade e produção de calos na fase de proliferação

(Sousa e Miranda, 2006). A sua ausência no meio de cultura proporciona a formação de raízes (Barbosa et al., 1993)

As citocininas podem ainda estar relacionadas ao surgimento de mutações somaclonais, durante o processo de cultivo *in vitro*. Barbosa et al. (1993) ao trabalharem com a citocinina sintética 6-Benzilaminopurina (BAP) na variedade Appelbloesem, observaram a formação de calos. Na proliferação eles favorecem o surgimento de brotos adventícios, indesejáveis na produção de mudas porque aumentam a probabilidade de surgir mutações somaclonais, gerando dessa forma, variação genética (Gohan e Georger, 2008).

A concentração de citocinina, considerada ideal no meio de cultura, varia entre diferentes cultivares. Deng e Bhatharai (2018) citam em seu trabalho que diferentes cultivares de gérbera parecem responder de modo diferente em condições de cultivo *in vitro*, sendo frequentemente necessária uma modificação no protocolo do meio de cultura. Rashimir et al. (2018) definiram as respostas das plantas de gérbera *in vitro* como dependentes da cultivar utilizada, dos hormônios de crescimento e da composição do meio de cultura. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações do regulador 6-Benzilaminapurina (BAP) na proliferação de brotações do híbrido experimental DTCSII.

MATERIAL E MÉTODOS

No trabalho foi utilizado o genótipo de um híbrido experimental de gérbera denominado DTCSII, obtido no Departamento de Tecnologias e Ciências Sociais (DTCS), Campus III da UNEB, em Juazeiro-BA (09°25'43,6" S, 40°32'14" W, 384 m). O ensaio foi constituído de quatro tratamentos, cinco repetições e três parcelas, totalizando 15 parcelas por tratamento. O meio de cultura foi composto pelos sais inorgânicos de Murashige e Skoog (MS) (Murashige e Skoog, 1962) e vitaminas de White (1943), acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, 7 g L⁻¹ de ágar, e diferentes concentrações de BAP. O pH foi ajustado para 5.7 ±1 e o meio autoclavado a 120 °C por 20 minutos.

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia do DTCS/UNEB no delineamento inteiramente casualizado, em sala de crescimento, com fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25 °C, durante os meses de março e abril. As concentrações do regulador 6-Benzilaminapurina (BAP) utilizadas nos tratamentos foram de 0,00 (Controle); 0,75; 1,00 e 1,50 mg L⁻¹.

Após o período de 42 dias, depois da inoculação dos explantes em meio de cultura, os dados foram coletados e foi feita a análise de variância. Quando observadas diferenças significativas, as médias foram submetidas ao teste de Tukey a 5% de significância. Foram avaliadas as seguintes características: biomassa fresca, número de brotações, número de folhas, além de observações quanto a deformidades nas folhas, formação de raízes e de calos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observadas diferenças significativas em todas as variáveis avaliadas (Tabela 1). Os tratamentos acrescidos de 1,00 e 1,50 mg L⁻¹ de BAP não diferiram estatisticamente para nenhuma das variáveis e foram os que proporcionaram a obtenção das maiores médias de número de brotações e da biomassa fresca. Entretanto, na concentração de 1,50 mg L⁻¹, a qualidade das brotações foi inferior quando comparadas aquelas obtidas com 1,00 mg L⁻¹ de BAP.

Tabela 1. Número médio de brotações, folhas e biomassa na proliferação *in vitro* do híbrido de gérbera DTCSII em diferentes concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP).

Tratamentos (mg L ⁻¹)	Variáveis		
	Número médio de brotações	Número médio de folhas	Biomassa Fresca
0,00	1,00 c	5,33 c	0,306 c
0,75	2,85 b	11,27 bc	0,719 b
1,00	4,83 a	16,95 ab	1,304 a
1,50	5,40 a	20,96 a	1,282 a
CV (%)	8	9	15

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, a 5% de significância, pelo teste de Tukey.

O regulador vegetal 6-Benzilaminopurina influenciou no número de brotações, de folhas, na biomassa e na morfologia das plantas de gérbera (Figura 1).

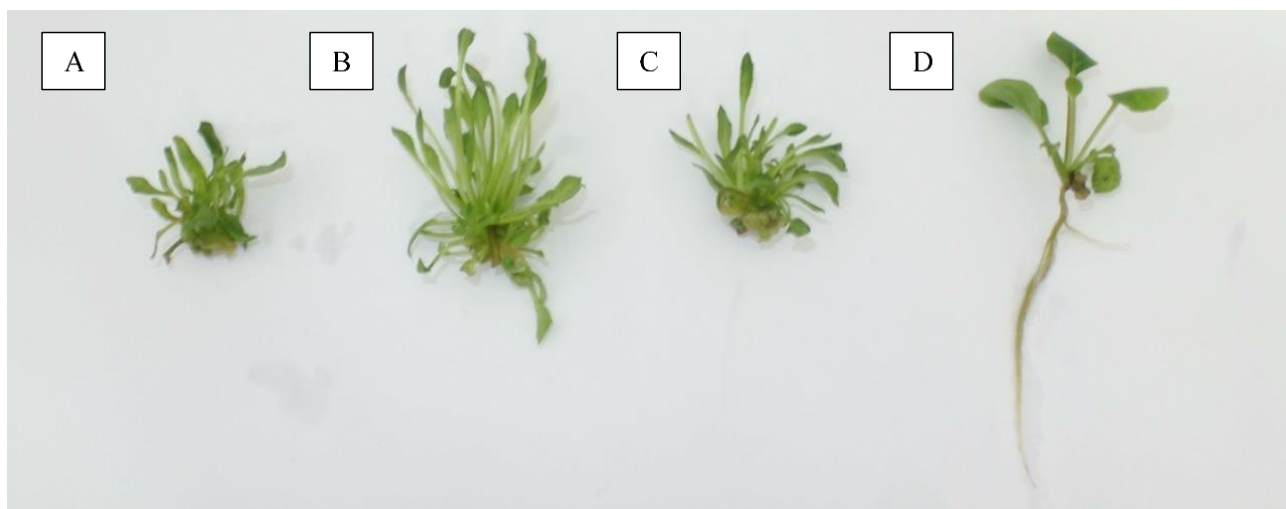


Figura 1. Plantas de gérbera híbrida após o período de 42 dias em sala de crescimento nas seguintes concentrações do regulador 6-Benzilaminopurina (BAP): A- 0,75; B- 1,00; C- 1,50; D- 0,0 mg L⁻¹.

Com o aumento das concentrações de 6-benzilaminopurina, ocorreu maior frequência de calos bem desenvolvidos e folhas alongadas (Figura 2) e foram observadas brotações com hiperidricidade. Sousa e Miranda (2006), de forma semelhante, observaram em plantas de

gérbera, variedade Ornela, que concentrações acima de 2,00 mg L⁻¹ induziram a formação de plântulas com características indesejáveis. Melhores resultados na proliferação de brotos foram obtidos com a combinação de 0,5 mg L⁻¹ de BAP e diferentes níveis de ácido indolbutírico (AIB) (0,00; 0,05 e 0,50 mg L⁻¹).

Barbosa et al. (1993) também observaram leve formação de calo na proliferação *in vitro* da var. Appelbloesen e associaram a presença do regulador BAP. Essa característica apesar de importante do ponto de vista do melhoramento genético em plantas, na perspectiva da clonagem *in vitro* torna-se indesejável, pois, o surgimento de calos pode levar ao aparecimento de brotos adventícios, estes por sua vez, se utilizados no processo de proliferação, aumentam a possibilidade do surgimento de mutações somaclonais (Gohan e George, 2008), originando plantas genotipicamente diferentes da planta matriz, prejudicando assim o processo de clonagem.



Figura 2. Plantas de gérbera híbrida após o período de 42 dias de cultivo em meio MS acrescido de 1,5 mg L⁻¹ de BAP.

A concentração ideal de citocininas no meio de cultura para uma ótima taxa de proliferação *in vitro* está diretamente relacionada a cultivar utilizada. Akter (2012) relata que as melhores respostas na proliferação *in vitro* de três variedades de gérbera foram obtidas utilizando as concentrações de 2,00 mg L⁻¹. Barbosa et al. (1993) obtiveram melhores taxas de proliferação na variedade Appelbloesen com 1,00 mg L⁻¹ de BAP. Por outro lado, Naz et al. (2012) ao trabalhar com gérbera (*Gerbera jamesonii*) obtiveram uma maior indução de brotações com 10,00 mg L⁻¹ de BAP. Son et al. (2011), por sua vez, obtiveram uma melhor proliferação de brotos na variedade Bonnie utilizando a concentração de 3,00 mg L⁻¹ de BAP complementados com 0,10 mg L⁻¹ de ácido naftaleno acético (ANA), uma auxina sintética. Essas diferenças demonstram a resposta genótipo dependente das plântulas de gérbera, nas diferentes concentrações do regulador BAP e a necessidade do ajuste no protocolo de micropropagação para a produção de mudas de diferentes variedades.

Na ausência da citocinina não houve indução de brotações. Os resultados foram semelhantes aqueles obtidos por Barbosa et al. (1993), com emissão de raízes em todas as plantas, leve aumento no número de folhas e um maior desenvolvimento tanto em largura quanto comprimento das mesmas.

CONCLUSÕES

A ausência de benzilaminopurina (BAP) no meio de proliferação favoreceu a formação de raízes no híbrido DTCSII e não proporcionou a formação de brotos.

A maior proliferação de brotos com qualidade ocorreu na concentração de 1,0 mg L⁻¹ de BAP.

A concentração de 1,5 mg L⁻¹ induziu deformações nas folhas das plantas e formação de calo.

REFERÊNCIAS

Akter, N.; Hoque, M. I.; Sarker, R. H. *In vitro* Propagation in Three Varieties of Gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus.) from Flower Bud and Flower Stalk Explants. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 22(2), 143-152, 2012.

Barbosa, M. H. P.; Pasqual, M.; Pinto, J. E. B. P.; Arello, E. F.; Barros, I. Efeitos da benzilaminopurina e ácido indole-3-acético sobre a propagação *in vitro* de *Gerbera jamesonii* Bolus ex. Hook cv. Appelbloesem. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 28(1), 15-19, 1993.

Deng, Z.; Bhattarai, K. Gérbera. In: Huylenbroeck, J. V. (Ed.). *Handbook of plant breeding*. Belgium: Springer International Publishing, 2018, p.407-435.

Gohan, P. B.; George, E. F. Adventitious Regeneration. In: George, E. F.; Hall, M. A.; De Klerk, G. J. (Ed.). *Plant propagation by tissue culture*. The Netherlands: Springer International Publishing, 2008, p.355-401.

Machakoya, I.; Zazimaloya, E.; George, E. F. Plant Growth Regulators I: Introduction; Auxins, their Analogues and Inhibitors Adventitious Regeneration. In: George, E. F.; Hall, M. A.; De Klerk, G. J. (Ed.). *Plant propagation by tissue culture*. The Netherlands: Springer International Publishing, 2008, p.175-201.

Murashige, T.; Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497, 1962.

Naz, S.; Naz, F.; Tariq, A.; Aslam, F.; Ali A.; Athar, M. Effect of different explants on *in vitro* propagation of gerbera (*Gerbera jamesonii*). *African Journal of Biotechnology*, 11(37), 9048-9053, 2012.

Rashmi, R.; Aswath, C.; Dhananjaya, M. V.; Patil, S.R. Commercial Multiplication of Gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus ex. Hooker F.) from Young Capitulum Explants. *International Journal of Current Microbiology Applied Sciences*, 7(11), 2524-2537, 2018.

Son, N. V.; Mokashi, A. N.; Hegde, R. V.; Patil, V. S.; Lingaraju, S. Response of gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus) varieties to micropropagation. *Karnataka Journal of Agricultural Science*, 24(3), 354-357, 2011.

Sousa, C. M.; Miranda, R. M. Otimização do balanço entre auxina e citocinina para multiplicação *in vitro* de *Gerbera jamesonii* Var. "Ornela". *Agronomia*, 40(1-2), 66-72, 2006.

Taiz, L.; Zeiger, E.; Moller, I. M.; Murphy, A. *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

White, P. R. Nutrient deficiency studies and an improved inorganic nutrient medium for cultivation of excised tomato roots. *Growth*, 7, 53-65, 1943.