

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA (UNEB)**  
**Pró-Reitoria de Pesquisa e Ensino de Pós-Graduação (PPG)**  
**Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais (DTCS)**  
**Programa de Pós-Graduação em Agronomia: Horticultura Irrigada (PPGHI)**

AMANDA DE OLIVEIRA RIOS

**MICROPROPAGAÇÃO DE GÉRBERA EM MEIO DE CULTURA COM  
SUBSTITUIÇÃO DE NITRATO DE AMÔNIO POR  
FERTILIZANTE COMERCIAL**

JUAZEIRO-BA  
2020

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA (UNEB)**  
**Pró-Reitoria de Pesquisa e Ensino de Pós-Graduação (PPG)**  
**Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais (DTCS)**  
**Programa de Pós-Graduação em Agronomia: Horticultura Irrigada (PPGHI)**

AMANDA DE OLIVEIRA RIOS

**MICROPROPAGAÇÃO DE GÉRBERA EM MEIO DE CULTURA COM  
SUBSTITUIÇÃO DE NITRATO DE AMÔNIO POR  
FERTILIZANTE COMERCIAL**

Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia: Horticultura Irrigada da Universidade do Estado da Bahia (PPGHI - UNEB/DTCS), como requisito para a obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração: Horticultura Irrigada.

**Orientadora:** Elizabeth Orika Ono

JUAZEIRO-BA  
2020

R586m

Rios, Amanda de Oliveira

Micropropagação de gérbera em meio de cultura com substituição de nitrato de amônio por fertilizante comercial / Amanda De Oliveira Rios. Juazeiro-BA, 2011.

33 fls.: il.

Orientador(a): Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Elisabeth Orika Ono.

Co- Orientador(a): Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Joselita Cardoso Souza

Inclui Referências

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais – DTCS. Programa de Pós-Graduação em Horticultura Irrigada - PPGHI, Campus III. 2011.

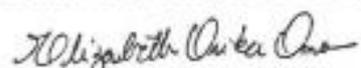
1. Gerbera híbrida. 2. Micropropagação. 3. Fertilizante comercial. 4. Nitrato de Amônio. 5. Meio de cultura. I. Ono, Elisabeth Orika. II. Souza, Joselita Cardoso. III. Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais – DTCS. IV. Título.

CDD: 635.93355

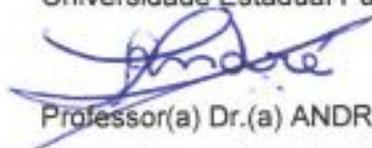
**FOLHA DE APROVAÇÃO**  
**"MICROPROPAGAÇÃO DE GÉRBERA EM MEIO DE CULTURA COM SUBSTITUIÇÃO**  
**DO NITRATO DE AMÔNIO POR FERTILIZANTE COMERCIAL "**

**AMANDA DE OLIVEIRA RIOS**

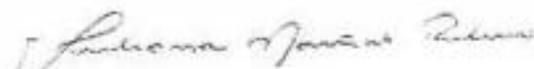
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Horticultura Irrigada – PPHI, em 23 de outubro de 2020, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Agronomia: Horticultura Irrigada pela Universidade do Estado da Bahia, conforme avaliação da Banca Examinadora:



Professor(a) Dr.(a) ELIZABETH ORIKA ONO  
Doutorado em Ciências Biológicas (Botânica)  
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho



Professor(a) Dr.(a) ANDRÉ LUÍS LOPES DA SILVA  
Doutorado em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia  
Universidade Estadual da Bahia



Professor(a) Dr.(a) JULIANA MARTINS RIBEIRO  
Embrapa - EMBRAPA  
Doutorado em Produção Vegetal  
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

## DEDICATÓRIA

*“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.” (Theodore Roosevelt).*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus por estar presente em toda minha vida e me fazer uma pessoa mais forte em todos os momentos.

À minha família, em especial, aos meus pais, meu marido que contribuiu na compreensão durante todo esse tempo, além de incentivar a fazer o mestrado.

À minha orientadora, Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Elizabeth Orika Ono pelos ensinamentos e compromisso com a pesquisa.

À minha co-orientadora Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Joselita Cardoso, pelos ensinamentos, parceria e amizade durante todo meu trabalho.

A Dr<sup>ª</sup> Essione Ribeiro Souza por ceder sua empresa para a realização de um dos meus experimentos, além dos ensinamentos.

Ao grupo do laboratório de Biotecnologia da UNEB e meus amigos: Joice, Fernanda, Alessandro, Lorrana, Adriana, Bruna, Lucicleia, Dora e todos que de alguma forma poderão contribuir com o meu crescimento.

À Universidade do Estado da Bahia (UNEB).

À CAPES pela concessão da bolsa e ao apoio financeiro durante o curso,

Muito obrigada a todos, que de alguma forma, contribuíram para meu aprendizado.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>8</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>9</b>
<b>01 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
<b>02 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>12</b>
2.1 Gérbera: comercialização e aspectos botânicos .....	<b>12</b>
<b>2.2 Micropropagação</b> .....	<b>13</b>
2.3 Micropropagação em gérbera .....	<b>14</b>
2.4 Importância nutricional .....	<b>15</b>
2.5 Reduções de Custos na micropropagação .....	<b>16</b>
<b>03 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>18</b>
3.1 Local do experimento .....	<b>18</b>
3.2 Material vegetal e condições de cultivo .....	<b>18</b>
3.3 Multiplicação <i>in vitro</i> .....	<b>19</b>
3.4 Enraizamento <i>in vitro</i> .....	<b>20</b>
3.5 Aclimatização .....	<b>20</b>
3.6 Delineamento experimental .....	<b>21</b>
<b>4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>22</b>
4.1. Multiplicação <i>in vitro</i> .....	<b>22</b>
<b>5.0 CONCLUSÕES</b> .....	<b>28</b>
<b>6.0 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>29</b>

## RESUMO

A aquisição de alguns reagentes importantes na produção de mudas em laboratório é restrita, precisando da autorização do Exército para a sua liberação e aquisição. Com o objetivo de reduzir custos e facilitar o acesso aos materiais necessários para a produção de mudas micropropagadas de gérbera, este trabalho propôs avaliar a substituição no meio nutritivo MS de nitrato de amônio puro para análise P.A. pelo nitrato de amônio, presente em fertilizante agrícola, para micropropagação da cultivar Tâmara e do híbrido experimental DTCS. O experimento foi realizado nas fases de multiplicação e enraizamento *in vitro*, em delineamento inteiramente casualizado com sete tratamentos, cinco repetições e três parcelas para a cv. Tâmara e cinco repetições com duas parcelas para o híbrido experimental DTCS. Utilizou-se o meio nutritivo MS, substituindo o nitrato de amônio P.A. pelo fertilizante nitrato de amônio, nas concentrações de 0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 g/L<sup>-1</sup> e um tratamento controle com 1,6 g/L<sup>-1</sup> de nitrato de amônio P.A. Após 40 dias, as plantas foram avaliadas na fase de multiplicação, em relação a biomassa fresca, número de brotações e comprimento da parte aérea. Na fase de enraizamento as variáveis analisadas foram o número de raízes, o comprimento da maior raiz e da parte aérea e biomassa fresca. Na comparação das concentrações do fertilizante com o tratamento controle contendo o nitrato de amônio P.A. a produção de brotos foi superior em duas concentrações do fertilizante (1,0 e 1,5 g/L) no híbrido DTCS e em duas 1,5 e 2,0 g/L) na Tâmara. Na fase de multiplicação a concentração de 1,0 e 1,5 g L<sup>-1</sup> do fertilizante no meio nutritivo promoveram maior produção de brotos que o controle com reagente P.A. no híbrido DTCS. Na Tâmara o mesmo ocorre com as concentrações de 1,5 a 2,0 g/L. Na fase de enraizamento todas as concentrações do fertilizante, exceto 2,0 g/L, proporcionam resultados iguais ao controle no híbrido DTCS. Na cultivar Tâmara as concentrações de 1,5 e 2,0 do fertilizante tiveram resultados iguais ao controle. A concentração de 1,5 g/L do fertilizante atende os requerimentos dos dois híbridos nas fases de multiplicação e enraizamento. Portanto, o fertilizante pode substituir satisfatoriamente o reagente P.A. na propagação *in vitro* da gérbera.

**Palavras-chave:** Redução de custos; cultura de tecidos; *Gérbera híbrida*.

## ABSTRACT

The acquisition of some important reagents in the production of seedlings in the laboratory is restricted, requiring the authorization of the Army for their release and acquisition. In order to reduce costs and facilitate access to the materials necessary for the production of micropropagated gerbera seedlings, this work proposed to evaluate the substitution of pure ammonium nitrate in the MS nutrient medium for PA analysis by ammonium nitrate, present in agricultural fertilizer, for micropropagation of the cultivar Tâmara and the experimental hybrid DTCS. The experiment was carried out in the multiplication and rooting phases *in vitro*, in a completely randomized design with seven treatments, five replications and three plots for the cv. Tâmara and five replicates with two plots for the experimental hybrid DTCS. The nutrient medium MS was used, replacing ammonium nitrate P.A. by ammonium nitrate fertilizer, in concentrations of 0; 0.5; 1.0; 1.5 and 2.0 g / L<sup>-1</sup> and a control treatment with 1.6 g / L<sup>-1</sup> of ammonium nitrate PA. After 40 days, the plants were evaluated in the multiplication phase, in relation to fresh biomass, number shoots and shoot length. In the rooting phase, the variables analyzed were the number of roots, the length of the largest root and the aerial part and fresh biomass. In the comparison of fertilizer concentrations with the control treatment containing ammonium nitrate PA, the production of sprouts was higher in two fertilizer concentrations (1.0 and 1.5 g / L) in the DTCS hybrid and in two 1.5 and 2.0 g / L) on the Date. In the multiplication phase, the concentration of 1.0 and 1.5 g L<sup>-1</sup> of the fertilizer in the nutrient medium promoted greater production of sprouts than the control with P.A reagent in the DTCS hybrid. In cv Tâmara it is the same with concentrations of 1.5 to 2.0 g / L. In the rooting phase, all fertilizer concentrations, except 2.0 g / L, provide results equal to the control in the DTCS hybrid. In the cultivar Tâmara the concentrations of 1.5 and 2.0 of the fertilizer had results equal to the control. The concentration of 1.5 g / L of the fertilizer meets the requirements of the two hybrids in the multiplication and rooting phases. Therefore, the fertilizer can satisfactorily replace the P.A. reagent in the *in vitro* propagation of gerbera.

Keywords: Cost reduction; fabric culture; Hybrid gerbera

## 01 INTRODUÇÃO

A floricultura no Brasil tem grande importância econômica e vem crescendo com o passar dos anos. Em 2014 a cadeia produtiva de flores movimentou R\$ 5,64 bilhões, o que correspondeu a um crescimento de 8% em relação ao ano anterior. Atualmente conta com aproximadamente 8.250 produtores que cultivam cerca de 3.500 variedades e 350 espécies de flores e plantas ornamentais. Dentre as flores de corte mais cultivadas, a gérbera é considerada uma das mais importantes, ficando em quarto lugar no mercado internacional de flores de corte (JUNQUEIRA, 2014; IBRAFLOR, 2015; SAHU *et al.*, 2016).

A gérbera (*Gerbera jamesonii*), planta herbácea, pertencente à família Asteraceae, tribo Mutisiae, compreende cerca de 100 espécies distribuídas em sete gêneros. Originária da África do Sul, não se sabe ao certo quando as gérberas foram introduzidas e propagadas no Brasil, porém, desde a década de 30 já existia a produção e comercialização das suas flores.

O cultivo comercial de gérberas é amplamente realizado em vasos, como flor de corte e no paisagismo. Atualmente, devido à seleção de novas cultivares pelo melhoramento genético, as flores apresentam grande variabilidade de cores, uniformidade, qualidade, tamanhos, formas e adaptação em diferentes condições climáticas, permitindo assim, a expansão da sua produção.

A propagação da gérbera pode ser realizada por sementes (reprodução sexual) ou por propagação vegetativa (estacas de caule e micropropagação). Entretanto, o método de propagação mais utilizado em gérberas de corte é a micropropagação *in vitro*, com explantes de capítulos florais jovens ou brotações apicais. Esta forma de propagação é considerada mais confiável para a produção de clones com boa sanidade e lotes uniformes.

A micropropagação faz parte de um campo da biotecnologia, a cultura de tecidos, e por meio desta técnica é possível obter clones a partir de um único explante. No entanto, seu elevado custo reflete no preço final do produto. Assim a criação de novas metodologias de baixo custo para o cultivo *in vitro* se torna importante, contribuindo para a facilidade, rapidez, segurança e rentabilidade das biofábricas. Inúmeros estudos têm sido publicados sobre métodos de redução de custo na propagação *in vitro*, dentre eles: os métodos usando biorreatores; retirada do ágar do meio de cultura com utilização de meio líquido; uso de águas residuais como fonte de nutrientes para as plantas; substituição de reagentes para análise (P.A.), utilizados no meio

nutritivo, por fertilizantes; uso de luz natural nas salas de crescimento; uso de macronutrientes e micronutrientes como precursores dos reguladores vegetais; métodos alternativos para a produção de reguladores vegetais e métodos de esterilização química do meio nutritivo (CARDOSO *et al.*, 2018).

Contudo, ainda são poucos os relatos sobre a substituição de reagentes no meio nutritivo, por fertilizantes. Os nitratos de potássio e amônio P.A., utilizados no meio de cultivo, apresentam custo elevado e são usados também na produção de explosivos. A comercialização desses reagentes, com 70% ou mais de nitrato, é controlada pelo Exército Brasileiro, por meio da Diretoria de Fiscalização de Produtos Controlados, que define as condições de transporte manipulação e armazenamento do produto.

O nitrato de amônio ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) é uma das fontes de nitrogênio mais utilizada na agricultura. Na cultura de tecidos é um componente do meio de cultivo *in vitro*, na sua forma pura para análise (P.A.). Nas plantas o nitrogênio, absorvido principalmente na forma de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), tem grande importância em vários processos metabólicos, fazendo parte da constituição de várias biomoléculas essenciais, como aminoácidos, ácidos nucleicos, proteínas e enzimas. No crescimento celular, a assimilação do nitrogênio contribui para o aumento de macromoléculas e componentes celulares, sendo importantes para o aumento em tamanho e número de células (OLDONI, 2009; DURZAN, 1985, SAKUTA *et al.*, 1987).

O elevado custo do nitrato de amônio, aliado à dificuldade de sua aquisição tem levado à realização de trabalhos, visando buscar alternativas viáveis e rentáveis para a substituição dessa fonte de nitrogênio. Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar a viabilidade da substituição do nitrato de amônio P.A. pelo produto comercial com nitrato de amônio, como uma das fontes de nitrogênio no meio nutritivo para a micropropagação da gérbera nas fases de multiplicação e enraizamento.

## 02 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Gérbera: comercialização e aspectos botânicos

A floricultura brasileira, atualmente, é considerada um setor rentável que produz mais de 350 variedades de flores e plantas ornamentais. O segmento de flores movimentou cerca de R\$ 8,5 bilhões em 2019, cerca de US\$161 mil em flores foram exportados para o mercado internacional. O principal destino do mercado brasileiro de flores atualmente é a Holanda, com participação em 77,64% das exportações (DOMANI, 2020).

No Brasil, existem cerca de 16,4 mil estabelecimentos com produção de flores e plantas ornamentais, a maioria no Sudeste (46,2%), sendo que, especificamente, 24,2% estão no estado de São Paulo e 10,8%, no estado de Minas Gerais. O Nordeste possui 16,5% de estabelecimentos, ocupando assim a terceira colocação nacional depois do Sul, produzindo flores e folhagens para corte, plantas ornamentais em vasos e mudas, perfazendo 80,9% dos produtos mais demandados, liderado pela Bahia (968 estabelecimentos), Pernambuco (678), Ceará (398) e Sergipe (226) (BRAINER, 2019).

A região Sudeste concentra a maior parcela da produção brasileira de flores e plantas ornamentais, agregando, 53,3% do número global de produtores e 65,9% da área total cultivada com flores e plantas ornamentais no País. A gérbera é a terceira flor mais vendida, perdendo apenas para as rosas e crisântemos (NERVES *et al.*, 2015; SEBRAE, 2015)

Em 2014, foram produzidas nos EUA, um total de 354 milhões de flores cortadas, e 31.065 milhões eram gérberas. Desta forma, as gérberas estão entre as cinco flores de corte mais comercializadas no mundo. No Brasil a produção e o consumo de flores e plantas ornamentais vêm acompanhando a tendência do mercado mundial, crescendo a cada ano. A gérbera fica no lugar de 169º do produto mais comercializado no CEAGESP. Em 2017, foram comercializadas 142 toneladas de Gérberas, tendo destaque para as cidades de Atibaia SP (35%), Mogi das Cruzes-SP (22%) e Bragança Paulista- SP (13%)(TERRA, 2013; NASS-USDS, 2014; ).

A gérbera foi descoberta pelo botânico R. Jarmeson no sul da África e descrita pela primeira vez em 1889 por Joseph Dalton Hooker. Seu nome foi colocado em homenagem ao Alemão Trangott Gerber, que coletou mudas de gérbera por toda a península da Jutlândia, Dinamarca (HANSEN, 1985; PEARS *et al.*, 2014). Sua comercialização iniciou em 1920 com

a produção de flores de corte. O primeiro cultivar selecionado para propagação por semente, denominado Happipot, foi produzido no Japão em 1980 (ROGERS; TJIA, 1990).

A *Gerbera jamesonii*, comumente conhecida como gérbera, é nativa da África do Sul e da Ásia. É uma erva ornamental com inflorescências em forma de capítulo, pertencente à família Asteraceae. Destaca-se pela diversidade de cores de suas inflorescências. No Brasil é uma das cinco flores mais comercializadas, tendo uma ampla gama de utilizações, principalmente para arranjos e buquês (PEREIRA, 2013; MORADI, 2011).

Do ponto de vista morfológico, a gérbera apresenta uma alteração na forma da inflorescência, sendo classificada como capítulo simples, semidobrado e dobrado. A cor do centro do capítulo pode ser clara ou escura. (ROCHA, 2013). Esta espécie tem um alto valor de mercado, assim, o trabalho da família pode ser usado para explorar em pequenas propriedades.

A gérbera híbrida (*Gerbera jamesonii* x *G. viridifolia*), é vendida geralmente como flores de vaso e corte. Seu grande potencial é explicado pela diversidade de cores, cultivares e longa vida útil (XIA *et al.*, 2006; GANTAIT *et al.*, 2011; NIEDZ *et al.*, 2014). A variedade híbrida mais cultivada de acordo com a preferência do mercado quanto à coloração das pétalas é a seguinte: vermelha (22%), amarela (18%), lilás (17%), laranja (14%) e rosa (13%) (INFOAGRO, 2014).

A propagação da gérbera pode ser realizada por sementes ou por partes vegetativas (divisão de touceiras e micropropagação *in vitro*), sendo a primeira inadequada para cultivos comerciais devido à grande variabilidade ocasionada pela segregação genética, apresentando alto nível de heterozigosidade, gerando assim, a perda de características importantes, principalmente, para as flores de corte, que são comercializadas. Nesse contexto, a produção de mudas através da cultura de tecidos tem grande importância econômica para várias espécies, permitindo obter maior número de plantas em um curto espaço de tempo, com um alto padrão genético e fitossanitário (GANTAIT, 2011; HARDING *et al.*, 1991;).

## 2.2 Micropropagação

A micropropagação pode ser definida como uma técnica de propagação *in vitro* que por meio de uma porção específica da planta, conhecido como explante, tem capacidade

morfogênica e totipotencial das células para propagar uma nova planta. Pode-se citar como explante: fragmentos de raízes, hipocótilos, epicótilos, cotilédones, flores e folhas. Também pode ser utilizado grãos de pólen, embriões, óvulos, nós, gemas axilares ou apicais (CID, 2010), sendo específico para cada espécie ou cultivar de planta.

A cultura de tecido *in vitro* é a principal técnica usada para a produção de mudas de culturas de grande importância econômica, tais como: cana-de-açúcar, flores, eucaliptos e pinheiros. Em países como Alemanha, Índia, Holanda e EUA a cultura de tecidos na área de floricultura, gera bilhões de dólares anualmente. Essa técnica no mundo acadêmico tem dado suporte a diferentes linhas de pesquisas nas áreas da genética, melhoramento, fisiologia de plantas, fitopatologia, fitotecnia, etc.

Devido à propagação de sementes não fornecer estabilidade genética, além de perder as características específicas, quanto ao seu fenótipo (crescimento, floração e frutificação), a micropropagação entra como aliada na propagação clonal de plantas tendo como vantagens produzir mudas de maneira rápida, estéril, livre de doenças e limitações sazonais.

### **2.3 Micropropagação em gérbera**

Geralmente, as gérberas de corte são propagadas por cultura de tecidos, devido às vantagens que essa técnica tem para oferecer. Já foram testadas diferentes fontes de explantes, como ápices (HUANG; CHU, 1985), ápices de rizoma, capítulos jovens (SEVERIN *et al.*, 2000), folhas (JERZY; LUBOMSKI, 1991; REYNOIRD *et al.*, 1993), inflorescência (PIERIK *et al.*, 1973; PREIL *et al.*, 1977; SEVERIN *et al.*, 2000) e óvulos (ASAKURA, 1996; TOSCA *et al.*, 1999), sendo os mais utilizados os capítulos florais jovens e as brotações apicais.

Existem vários fatores na micropropagação que podem afetar o crescimento e desenvolvimento da gérbera *in vitro*, como o meio de cultura, reguladores vegetais (principalmente, a citocinina e a auxina); condições de crescimento (iluminação, temperatura), concentração de sacarose e genótipo (SON *et al.*, 2011; CARDOSO; TEIXEIRA DA SILVA, 2013).

Devido às diferenças no genótipo das cultivares, as gérberas parecem responder às condições de cultivo *in vitro* de forma diferente; diversos meios de cultura podem ser empregados para sua micropropagação, sendo o meio nutritivo MS (MURASHIGE; SKOOG,

1962), o mais adequado, tendo sua composição modificada, dependendo da cultivar utilizada (DENG *et al.*, 2018).

Vários trabalhos sobre a produção de mudas de gérbera vêm sendo realizados a partir da técnica de micropropagação (PIERIK *et al.*, 1973, 1975; MURASHIGE *et al.*, 1974; HUANG; CHU, 1985; MIYOSHI *et al.*, 1996; PALAI, 1998; ORLIKOWSKA *et al.*, 1999; SATO *et al.*, 1999; MEYNET; SIBI, 1984; TOPOONYANONT; DILLEN, 1988; MIYOS; POSADA *et al.*, 1999; TOSCA *et al.*, 1999; ASWATH; CHOUDHARY, 2002; REZENDE *et al.*, 2008; CHAKABRARTY; DATTA, 2008; SON *et al.*, 2011; SHABANPOUR *et al.*, 2011; CARDOSO *et al.*, 2018).

## 2.4 Importância nutricional

A gérbera, em geral, é considerada uma florífera bastante exigente com relação à sua nutrição. O conteúdo de nutrientes nas folhas para o seu desenvolvimento durante o estágio de produção de flores pode variar de 2,5 e 4,9% para N, entre 0,25 e 0,62% para P, 3,9 e 5,0% para K, entre 1,0 e 2,0% para Ca e 0,24 e 0,63% para Mg (DE KREIJ, 1990).

Na análise foliar de plantas de gérberas observa-se que segue um decréscimo dos macronutrientes na ordem de  $K > N > Ca > P > Mg > S$ . Por outro lado, os teores de micronutrientes decresceram na ordem:  $Fe > B > Mn > Zn > Cu$  (OLDONIM 2008). De acordo com Ludwig *et al.* (2008) a necessidade de macronutrientes para a Gerbera, é individualizada para cada híbrido, para que possa conseguir atingir seu potencial genético. Os requisitos mais exigentes são os seguintes na ordem de absorção:  $K > N > Ca > Mg > P > S$  (415, 327, 33, 32, 20 mg planta<sup>-1</sup> )

A espécie *Gérbera jamesonii* tem sido estudada mais como flor de corte. São poucas as informações disponíveis sobre as técnicas de cultivo como flor de vaso. Assim, o manejo da cultura muitas vezes é realizado de maneira empírica pelos produtores, como consequência da falta de acesso as informações de fontes confiáveis.

Em relação ao cultivo *in vitro* as exigências nutricionais são supridas pelos meios nutritivos de acordo com as necessidades exógenas da célula (TORRES, *et al* 2001). Cada

genótipo apresenta exigências nutricionais diferentes para seu desenvolvimento, precisando assim de um meio nutritivo adequado para cada espécie

Dentre os elementos mais importantes nutricionalmente, destaca-se o nitrogênio, absorvido principalmente na forma de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e amônio ( $\text{NH}_4^+$ ). Esse nutriente tem grande importância na assimilação de vários processos metabólicos, fazendo parte da constituição de várias biomoléculas essenciais, como aminoácidos, ácidos nucleicos, proteínas e enzimas. No crescimento celular, a assimilação do nitrogênio contribui para o aumento de macromoléculas e componentes celulares, sendo importantes para o aumento em tamanho e número de células (OLDONI, 2009; DURZAN, 1985, SAKUTA *et al.*, 1987).

O nitrato de amônio ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) é utilizado para a fabricação de explosivos e em indústrias (mineração construção civil), e principalmente na agricultura para nutrição de plantas. Considerado um composto químico estável e com baixa sensibilidade ao choque e fricção, tornando-se seguro para produzir e manusear em grandes quantidades.

Ao analisar o efeito do nitrato de amônio ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) e nitrato de potássio ( $\text{KNO}_3$ ) em multiplicação de brotos *in vitro* na tamareira observou-se que a concentração de  $825 \text{ mg/L}^{-1}$  de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  e  $1900 \text{ mg/L}^{-1}$  de  $\text{KNO}_3$  aumentou o número de brotos de 8,9 para 14,5, como também houve produção de brotos mais espessos e vigorosos (MARZI *et al.*, 2016).

## 2.5 Reduções de Custos na micropropagação

Os custos elevados no cultivo *in vitro* torna a prática onerosa para a produção de mudas em laboratório. A manutenção de um laboratório para micropropagação inclui: equipamentos para o preparo, esterilização e estocagem do meio nutritivo, equipamentos para manter o ambiente asséptico em salas de crescimento e transferência e equipamentos necessários para controlar os fatores ambientais na sala de crescimento, como: lâmpadas para luz artificial e ar condicionado para manter a temperatura em uma faixa para o desenvolvimento ideal de plantas cultivadas *in vitro* (IAEA-TECDOC, 2004; KAUR *et al.*, 2015).

Além desses custos, a energia elétrica para manter a temperatura na sala de crescimento, a mão de obra, o material vegetal, a estufa para aclimatização, os *royalties* para

o produtor da variedade e reagentes, contribuem para aumentar o custo dessa técnica. Como os reagentes com um alto grau de pureza, na maioria das vezes são indispensáveis apenas para estudos de algum fenômeno específico *in vitro* a produção comercial de plantas em laboratórios utilizando reagentes P.A. pode ser evitada. (PRAKASH *et al.*, 2004).

Os meios nutritivos poderiam ter seu custo reduzido pela simplificação ou alteração dos componentes. Uma solução é a sua produção do meio de cultura com da utilização de fertilizante químico composto por nitrogênio, fósforo e potássio (NPK); produtos orgânicos: tomate, banana e água de coco e resíduos industriais (bagaço da cana de açúcar, melado e rapadura) (CAMPOS, 2002). Os fertilizantes agrícolas apresentam vantagens por não precisarem da autorização pelo Ministério da Defesa para a sua aquisição como os reagentes P.A. de nitrato de amônio e nitrato de potássio, utilizados no meio nutritivo MS. Este controle é regulamentado pela Lei Federal nº 3665 de 20 de novembro de 2000 (BRASIL, 2000).

Desta forma, é possível reduzir a concentração dos sais minerais do meio MS ou substituí-los por outra fonte mais barata (KRIKORIAN *et al.*, 1991; SOUZA *et al.*, 2006; CARDOSO *et al.*, 2013). A composição química e a concentração dos sais no meio nutritivo podem causar desordens fisiológicas e levar à morte da planta (NAS; READ, 2004), sendo importante o ajuste, principalmente, dos macronutrientes. Altas concentrações de nitrogênio no meio MS em gérbera inibiu a formação de brotos (SATO *et al.*, 2001).

## 03 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Local do experimento

O experimento foi realizado no Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais, da Universidade do Estado da Bahia, localizado no Campus III, Juazeiro-BA (coordenadas geográficas 9° 24' S de latitude, 40° 30' W de longitude e 368 m de altitude). O experimento *in vitro* de gérbera híbrida foi realizado no laboratório de Biotecnologia/Cultura de Tecido da UNEB/Campus III com início em junho de 2019 e finalização em fevereiro de 2020.

O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é BSw h clima “quente, semiárido, com verão chuvoso”, evapotranspiração elevada, sendo a temperatura do mês mais frio superior a 18°C. A temperatura média é de 26,3°C, sendo os meses de junho e julho com temperaturas mais amenas.

### 3.2 Material vegetal e condições de cultivo

O material vegetativo utilizado para a condução do experimento foi obtido do estoque de plantas de gérbera (Híbrida) cv. Tâmara e o híbrido experimental DTCS que se encontravam no laboratório mantido no meio de multiplicação composta por sais inorgânicos de MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), vitaminas de White (1943), 2 ml L<sup>-1</sup> de BAP (6-Benzilaminopurina), 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 7 g L<sup>-1</sup> de ágar e 100 mg L<sup>-1</sup> de i-inositol distribuído em frascos de vidro de 25 x 150 mm. O pH foi ajustado 5,7 ± 1 e o meio esterilizado por autoclavagem (121°C e 1 kg cm<sup>2</sup>, durante 20 minutos). A cultura foi mantida em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas e irradiância de 50-60 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e temperatura de 27 ± 2°C

O experimento foi composto por sete tratamentos, sendo dois tratamentos controle (um sem nitrato de amônio e o outro com 1,6 g L<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub>NH<sub>4</sub> P.A) conforme a concentração do meio MS. Nos outros tratamentos o nitrato de amônio P.A foi substituído pelo fertilizante nitrato de amônio da marca Agroadubo<sup>®</sup>, (97% de nitrato de amônio e 3 % sulfato de amônio nas concentrações de 0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 g L<sup>-1</sup>

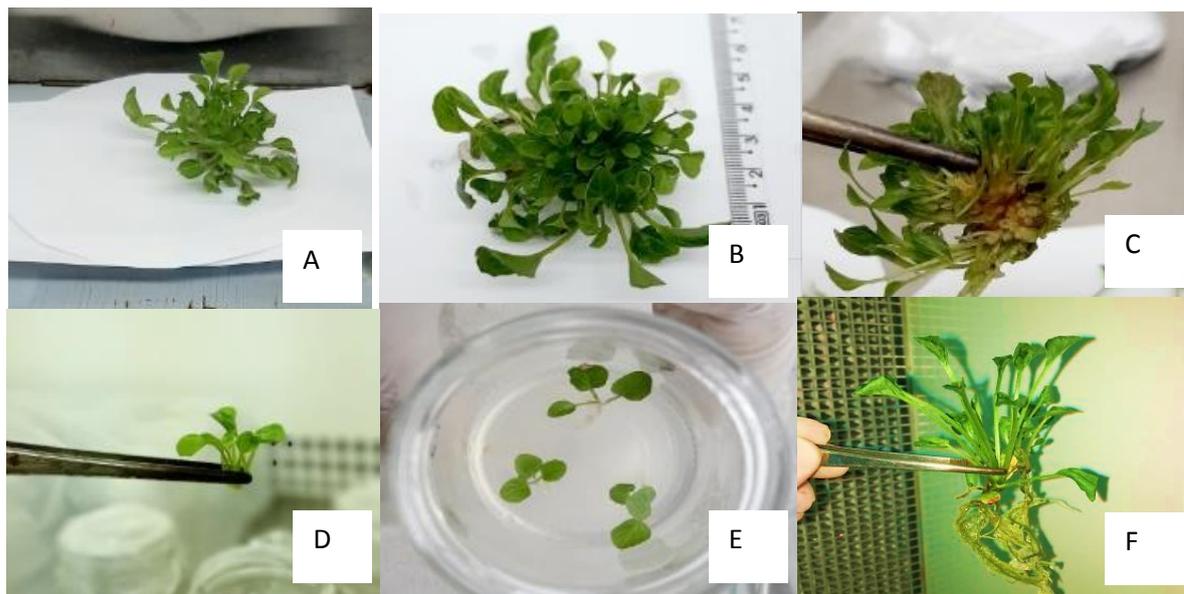
### 3.3 Multiplicação *in vitro*

As plantas estabelecidas em laboratório foram multiplicadas inicialmente para a execução do experimento, em meio composto de sais inorgânicos, MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e vitaminas de White (WHITE, 1943), contendo  $30 \text{ g L}^{-1}$  de sacarose,  $7 \text{ g L}^{-1}$  de ágar da marca (Vetec<sup>®</sup>) como agente de solidificação do meio,  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  de 6-benzilaminopurina (BAP) e pH ajustado para  $5,7 \pm 1$  aferido antes da adição do ágar .

Após 30 dias, o experimento foi iniciado e o meio nutritivo MS de multiplicação foi preparado conforme descrito acima substituindo ao reagente nitrato de amônio ( $\text{NO}_3\text{NH}_4$  P.A.) pelo fertilizante da marca Agroadubo<sup>®</sup>, nas concentrações de 0; 0,5; 1,0; 1,5 e  $2,0 \text{ g L}^{-1}$ . O fertilizante de acordo com o fabricante é composto de aproximadamente de 97% de nitrato de amônio e 3% de sulfato de amônio nos dois tratamentos controle um meio foi preparado sem a adição de nitrato de amônio e o outro com o reagente P.A. na concentração de  $1,6 \text{ g L}^{-1}$ .

O meio nutritivo foi distribuído em alíquotas de 20 mL por recipiente de vidro com capacidade para 250 mL que foram submetidos à esterilização em autoclave a 1,0 atm por  $121^\circ\text{C}$ , durante 20 minutos. Em câmara de fluxo laminar, os explantes de gérbera da cv. Tâmara e do híbrido experimental DTCS provenientes da cultura estoque do meio de multiplicação foram selecionadas com relação às plântulas mais uniformes na altura e qualidade. Posteriormente, foram cortadas, deixando um centímetro de comprimento para estimular a brotação. Foi colocado um explante por recipiente de cultura que foram identificados, vedados com filme plástico e, em seguida, foram colocadas na sala de crescimento com temperatura de  $26 \pm 1,0^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 16 horas e irradiância de  $19 \text{ mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  por 40 dia ( Figura 1).

Após 40 dias, em câmara de fluxo laminar, o comportamento das plantas no meio de multiplicação foi avaliado com base nos dados de média da biomassa fresca, número médio de brotações e comprimento médio da parte aérea.



**Figura 1.** Multiplicação *in vitro* da gérbera; A- Pesagem ,B- Comprimento da parte aérea , C- separação e contagem de brotos , D e E-inoculação; F- Plântula após 40 dias (Foto: RIOS, A.O, 2019).

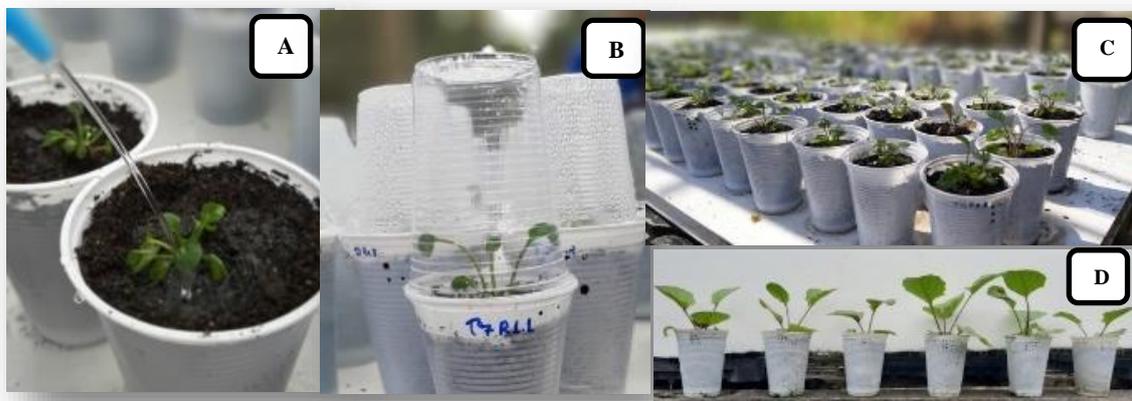
### 3.4 Enraizamento *in vitro*

Após as avaliações, as plântulas foram selecionadas e colocadas em um novo meio com os mesmos componentes descritos, anteriormente, sem adição de citocinina, benzilaminopurina (BAP), com o objetivo de promover a emissão de raiz, fase a qual é denominada de enraizamento, sendo mantidas por um período de 40 dias. Nesse meio nutritivo as plantas foram avaliadas quanto à média da biomassa fresca, comprimento médio da parte aérea e raízes e número médio de raízes.

### 3.5 Aclimatização

No processo de aclimatização, as plantas de gérberas foram transferidas para copos descartáveis de 200 mL preenchidos com substrato Topstrato® e vedados com copos descartáveis transparentes com volume de 300 ml. Depois de cinco dias, os copos transparentes foram retirados e descartados (Figura 2). Essa técnica permite manter a umidade por mais tempo, aumentando a sobrevivência das plântulas.

As mudas de gérberras foram mantidas em casa de vegetação durante 30 dias, com duas telas de sombreamento de 50% sobrepostas e sistema de nebulização programado para irrigar a cada 30 minutos com funcionamento por 5 segundos.



**Figura 2.** Estabelecimento *ex vitro* da gérberra; A-Transplântio das plantas; B- Manutenção da umidade; C- Adaptação das plantas; D- Plantas após sete dias em condições de sombreamento e nebulização; E- Mudanças de gérberra após 35 dias do transplântio (Foto: RIOS, A.O, 2019).

### 3.6 Delineamento experimental

Os dados foram analisados quanto à sua normalidade pelo teste W de Shapiro-Wilk, constatando-se que as variáveis da fase de enraizamento: peso médio da matéria fresca, folhas e raízes; e da fase de multiplicação: número médio de brotos e comprimento médio da parte aérea (CPA); não apresentaram distribuição normal. Desse modo, as variáveis PMF-Enraizamento, CPA-Multiplicação, foram transformadas em  $\sqrt{x}$ , e as variáveis folhas e raízes em  $\sqrt{x+1}$ , antes da análise de variância.

Após transformação, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), analisando-se os fatores isoladamente (cultivar e tratamentos) e a interação dos dois, utilizando-se o teste F de comparação dos quadrados médios ( $p \leq 0,05$ ) e, quando significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, empregando-se o programa Sisvar 5.7 (Ferreira, 2011).

## 4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Multiplicação *in vitro*

Na fase de multiplicação o número médio de brotos e o peso médio da matéria fresca (PMF) diferiram em função dos tratamentos aplicados (Tabela 1). Em todas as variáveis houve interação entre os fatores híbridos x tratamentos. O comprimento da parte aérea (CPA) não diferiu significativamente em relação aos tratamentos, mas diferiu em função do híbrido utilizado, devido às características genéticas de altura inerente a cada um.

**Tabela 1.** Resumo da análise da variância da produção de brotos de explantes dos híbridos de gérbera DTCS e Tâmara na multiplicação *in vitro*.

Causas da variação	GL	Quadrado Médio		
		NMB	PMF	CMPA
Híbridos	1	4,826**	0,173	0,275**
Tratamento	5	2,373**	2,106**	0,003
Híbridos*Tratamento	5	0,739**	0,919*	0,032*
Resíduo	48	0,048	0,280	0,012

GL- Grau de Liberdade; \*\* e \* significativo a 1% e 5% de significância, respectivamente, pelo teste F;); CMPA-comprimento médio da parte aérea (cm); NMB- número médio de brotos; PMF-peso médio da biomassa fresca (g).

Nos dois híbridos a menor produção de brotos ocorreu no meio de cultura sem nitrato de amônio (Tabela 2). No híbrido DTCS a produção foi maior nas concentrações 0,5 a 1,5 g/L do fertilizante, enquanto na cultivar Tâmara o aumento ocorreu apenas a partir da concentração 1,5 g/L. Estes resultados indicam que a Tâmara requer uma concentração maior de nitrato de amônio no meio de cultura para produção de brotos.

Considerando todos os tratamentos número de brotos/explante teve médias variando de cinco a 15,667 na Tâmara e de 8,85 a 19,90 no DTCS, portanto dependente do genótipo. Cardoso *et al* , 2013 ao analisar 50 cultivares de gérberas, observaram que a taxa de multiplicação de brotos pode variar de 1 a 10/explante. Gantait *et al*, 2010 obtiveram 14 brotos /explante e Nhut *et al* ,2007 nas progenies de cruzamento 22,2 brotos. A gébera por ser uma planta herbacea de crescimento rápido, precisa de altas concentrações de sais no meio nutritivo para incrementar a produção de brotos. SATO *et al*. (2001) com o objetivo de avaliarem o efeito de diferentes níveis de nitrogênio, na presença ou ausência de benzilaminopurina, na multiplicação de gérbera de vaso, observaram que altas concentrações de nitrogênio favoreceu

a formação de brotações, e baixas reduziu a produção; sendo que as concentrações intermediárias apresentaram melhores resultados para formação de brotos. BOUMAN *et al.* (2001) constataram que o ajuste dos macronutrientes proporcionou melhor taxa de crescimento das plantas do que os macronutrientes na proporção do meio MS para a cultivar Ornelas.

Em relação ao peso da matéria fresca a cultivar Tâmara teve a menor média apenas no tratamento sem nitrato de amônio, mas no DTCS foi maior que o controle na concentração de 1,0 g/L do fertilizante. Na propagação *in vitro* de orquídea *Cattleya trianaei*, utilizando fertilizante comercial, a massa da matéria fresca e parte aérea tiveram médias maiores nas doses do fertilizante, enquanto o meio de cultura MS reduzido apresentou a menor eficiência nessas variáveis. Isso destaca os efeitos benéficos do uso de fertilizantes na micropropagação de orquídeas e outras culturas como a gérbera. Além dos benefícios para o crescimento dessas plantas *in vitro*, são de aquisição mais fácil e menor custo (JÚNIOR, *et al* 2012).

**Tabela 2.** Desenvolvimento *in vitro* de explantes de gérbera híbrida, na fase de multiplicação, em diferentes concentrações do fertilizante nitrato de amônio (NO<sub>3</sub>NH<sub>4</sub>)

TRATAMENTOS	NMB		PMF		CPA	
	DTCS	TÂMARA	DTCS	TÂMARA	DTCS	TÂMARA
T2-MS	13,100Ba	8,867Bb	1,775Bb	2,458Aa	3,550Aa	3,200Aa
T3-0,0 g/L	8,850Ca	5,000Cb	1,959Ba	1,247Bb	3,620Aa	3,167Aa
T4-0,5 g/L	15,125Ba	10,267Bb	2,152Ba	2,709Aa	4,100Aa	2,961Ab
T5-1,0 g/L	19,400Aa	10,400Bb	3,308Aa	2,641Aa	4,000Aa	3,103Ab
T6-1,5 g/L	19,900Aa	13,400Ab	2,576ABa	2,483Aa	3,575Aa	3,361Aa
T7-2,0 g/L	12,000Bb	15,667Aa	2,665ABa	2,254Aa	3,500Aa	3,497Aa
CV (%)	6,00		22,50		5,79	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância. NMB – número médio de brotos; CPA-comprimento médio da parte aérea (cm); NMF – número médio de folhas; PMF - massa médio da matéria fresca; CV-coeficiente de variação.

Na comparação das concentrações do fertilizante com o tratamento controle contendo o nitrato de amônio P.A. a produção de brotos foi superior em duas concentrações do fertilizante (1,0 e 1,5 g/L) no híbrido DTCS e em duas 1,5 e 2,0 g/L) na Tâmara. Esta variável é a mais importante na medida da resposta do explante a proliferação *in vitro*. Contudo, observa-se que a concentração de 1,5 g/L do fertilizante proporcionou boa produção de brotos nos dois híbridos

podendo ser adotada na confecção do meio de multiplicação destes híbridos. Dessa forma, se constata que a substituição do reagente P.A. por fertilizante comercial não somente é viável como pode proporcionar a produção de maior número de brotos por explante, na fase de multiplicação em gérberas. Observou-se ainda a resposta diferenciada de cada híbrido em relação aos tratamentos indicando que a resposta à proliferação *in vitro* é dependente do genótipo.

#### 4.2 Enraizamento *in vitro*

Na fase de enraizamento *in vitro* os tratamentos aplicados não proporcionaram diferença no peso da matéria fresca, porém houve diferenças significativas em todas as outras variáveis. Houve diferenças significativas em todas as variáveis na interação híbrido x tratamento (Tabela 3).

**Tabela 3.** Resumo da análise da variância da produção de brotos de explantes dos híbridos de gérbera DTCS e Tâmara no enraizamento *in vitro* de gérberas em diferentes concentrações do fertilizante nitrato de amônio ( $\text{NO}_3\text{NH}_4$ ).

Causas da variação	GL	Quadrado Médio				
		PMF	CPR	CPT	NMF	NR
Híbridos	1	0,501**	0,249	9,300*	3,031**	0,754*
Tratamento	5	0,012	3,423*	5,707**	0,660**	0,047*
Híbridos*Tratamento	5	0,036*	0,900*	2,353*	0,137*	0,081*
Resíduo	48	0,812	0,756	1,654	0,161	0,039

GL- Grau de Liberdade; \*\* e \* significativo a 1% e 5% de significância, respectivamente, pelo teste F;); CPR-comprimento médio da raiz (cm); CPT-comprimento médio total da parte aérea e raiz (cm); PMF-peso médio da biomassa fresca(g) , número de raízes (NR).

Nos diferentes tratamentos o número médio de folhas só diferiu significativamente na cultivar Tâmara (Tabela 4). Por outro lado, o número médio de raízes mostrou diferenças apenas no híbrido DTCS. Nas duas variáveis observou-se resposta diferenciada dos híbridos ao mesmo tratamento, demonstrando o efeito do genótipo no cultivo *in vitro*, na fase de enraizamento.

No comprimento das raízes observou-se que na cultivar Tâmara a dose de 0,5 g/L diferiu significativamente do tratamento sem nitrato de amônio, mas não diferiu dos demais tratamentos. Para HUIMEI *et al.* (2007) o aumento da concentração deste nutriente pode favorecer o crescimento da parte aérea, em consequência, reduzir o número de raízes. .RUSSOWSKI e NICOLOSO (2003), avaliando o efeito da variação isolada da concentração

de N do meio MS no crescimento de plantas de *P. glomerata* cultivadas *in vitro*, observaram que o maior número de raízes por planta e maior porcentagem de plantas enraizadas foram obtidos com a concentração de N equivalente a 50% daquela do meio MS.

Na comparação do tratamento controle com os demais tratamentos observou-se que a produção de folhas do DTCS não diferiu do controle em todas as dosagens do fertilizante. Entretanto na cultivar Tâmara a ausência de nitrato e as doses de 0,5 a 1,0 reduziram a produção. Neste híbrido a dose de 1,5 e 2,0 g/L proporcionou a mesma produção do controle, evidenciando que também no enraizamento este híbrido necessita de maior concentração de nitrato de amônio no meio de cultura que o DTCS.

Em relação ao número médio de raízes o DTCS teve redução em relação ao controle quando a dose do fertilizante foi de 2,0 g/L. Na cultivar Tâmara não houve diferença significativa em nenhum dos tratamentos com o uso de fertilizante em relação ao controle. O comprimento das raízes é uma variável importante para sobrevivência das plantas em casa de vegetação. Uma maior produção de raízes promoverá maior superfície de contato, absorção de nutrientes, e estabelecimento da muda na aclimatização (CHANDRA *et al.*, 2010; JUNIOR, *et al.*, 2012 ).

Portanto, em todas as variáveis, na fase de enraizamento da gérbera, foram observados resultados iguais ou melhores que o tratamento controle nas concentrações do fertilizante comercial. No híbrido DTCS todas as concentrações do fertilizante, exceto 2,0 g/L, proporcionam resultados iguais ao controle em todas as variáveis. Na cultivar Tâmara isso só ocorre nas concentrações de 1,5 e 2,0 do fertilizante.

Avaliando uma concentração que atenda os requisitos dos dois genótipos na fase de enraizamento, observou-se que 1,5 do fertilizante proporcionou resultados iguais ao tratamento controle em todas as variáveis nos dois híbridos. Dessa forma, verificou-se que também é viável substituir o reagente P.A. por um fertilizante comercial no meio de enraizamento. Na aclimatização verificou-se que houve 100% de sobrevivência das plantas de gérbera. Não foram observadas alterações morfológicas nas plantas dos diferentes tratamentos.

**Tabela 4.** Enraizamento *in vitro* de explantes de gérbera híbrida em diferentes concentrações do fertilizante nitrato de amônio (NO<sub>3</sub>NH<sub>4</sub>)

TRATAMENTOS	PMF		CPR		CPT		NMF		NMR	
	DTCS	Tâmara	DTCS	Tâmara	DTCS	Tâmara	DTCS	Tâmara	DTCS	Tâmara
T2-MS	0,595Aa	0,811Aa	4,700Aa	5,547ABa	8,700ABa	10,333Aa	11,300Ab	16,933Aa	2,800Aa	2,467Aa
T3-0,0 g/L	0,341Ab	0,957Aa	4,550Aa	4,100Ba	7,600Bb	9,851Aa	7,700Aa	10,533Ba	1,900ABa	2,667Aa
T4-0,5 g/L	0,566Ab	0,966Aa	6,100Aa	5,947Aa	10,600Aa	11,307Aa	8,000Aa	10,533Ba	2,400ABa	3,067Aa
T5-1,0 g/L	0,543Aa	0,778Aa	5,450Aa	5,700ABa	9,650ABa	9,967Aa	9,400Aa	9,800Ba	1,800ABb	3,267Aa
T6-1,5 g/L	0,557Aa	0,697Aa	5,350Aa	4,933ABa	9,450ABa	9,167Aa	8,500Ab	13,267ABa	1,700ABb	2,733Aa
T7-2,0 g/L	0,538Aa	0,657Aa	6,050Aa	5,200ABa	9,200ABa	9,300Aa	9,200Aa	12,200ABa	1,400Bb	2,733Aa
CV (%)	16,24		16,40		13,41		11,92		10,80	

Os dados acompanhados por uma mesma letra são estatisticamente iguais segundo o Teste de Tukey, com 5% de significância. NMR – número médio da raiz (cm); CPT-comprimento total da parte aérea e raiz (cm); NMF – número médio de folhas; PMF - peso médio da biomassa fresca; CV-coeficiente de variação. Os dados foram obtidos 40 dias após a inoculação em meio de cultura



**Figura 4.** Enraizamento *in vitro* de plantas de gérbera cv. Tamara e do híbrido experimental DTCS em meio de cultura com variação nas concentrações e fonte de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (Foto: RIOS, A.O, 2019)



**Figura 5:** Desenvolvimento na fase reprodutiva da gérbera híbrida resultado do meio de cultura utilizando o fertilizante comercial na proporção de  $1,0 \text{ g L}^{-1}$  (Foto: RIOS, A.O, 2019)

## 5.0 CONCLUSÕES

A substituição do nitrato de amônio P.A. pelo fertilizante agrícola na micropropagação das gérberas híbrida é viável, sendo dependente de genótipo nas fases de multiplicação e enraizamento.

Na fase de multiplicação a concentração de 1,0 e 1,5 g L<sup>-1</sup> do fertilizante no meio nutritivo promoveram maior produção de brotos que o controle com reagente P.A, no híbrido DTCS. Na Tâmara o mesmo ocorre com as concentrações de 1,5 a 2,0 g/L

Na fase de enraizamento todas as concentrações do fertilizante, exceto 2,0 g/L, proporcionam resultados iguais ao controle no híbrido DTCS. Na cultivar Tâmara as concentrações de 1,5 e 2,0 do fertilizante tiveram resultados iguais ao controle.

A concentração de 1,5 g/L do fertilizante atende os requerimentos dos dois híbridos nas fases de multiplicação e enraizamento.

Na fase de aclimatização a sobrevivência das plantas foi de 100%, não houve diferenças visuais na morfologia das plantas.

## 6.0 REFERÊNCIAS

ASWATH CR, CHOUDHARY ML. Rapid plant regeneration from *Gerbera jamesonii* Boluscallus cultures. **Acta Botanica Croatica**; v.61:p.125–34, 2002.

BOUMAN, HMBTA; MORRIS, B.; TIEKSTRA, A. Development of new tissue culture media, using the relation between mineral composition of plant and medium. In: **IV International Symposium on *In vitro* Culture and Horticultural Breeding 560**. 2000. p. 373-376.

BRAINER, M.S.C. P Comércio Eletrônico. Caderno Setorial ETENE. Fortaleza: Banco do Nordeste. Ano 4, Nº 95, Setembro, 2019. Disponível em: <https://www.bnb.gov.br/publicacoes/CADERNO-SETORIAL>. Acesso em: 17 set. 2020

BRASIL. Decreto Nº 3665 de 20 de novembro de 2000. Dá nova redação ao Regulamento para a Fiscalização de Produtos Controlados (R-105). Disponível em: [http://www.5csm.eb.mil.br/5CSM\\_Internet/sfpc/r105.htm](http://www.5csm.eb.mil.br/5CSM_Internet/sfpc/r105.htm). Acesso em: 28 ago. 2019.

CAMPOS, D.M. de. Orquídeas: manual prático de cultura. Expressão e Cultura: Rio de Janeiro, 2002. 143p.

CARDOSO J.C., TEIXEIRA DA SILVA J.A., - *Gerbera* micropropagation. **Biotechnology Advances Adv.**, v.31: p.1344-1357, 2013b

CARDOSO, Jean Carlos; IMTHURN, Ana Carolina Petit. Esterilização química do meio de cultura para o cultivo *in vitro* de *gerbera* utilizando dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>). **Ornamental Horticulture**, v. 24, n. 3, p. 218-224, 2018.

CID, L. Pedro Barrueto; TEIXEIRA, J. B. Cultivo *in vitro* de plantas. **Brasília: Embrapa informação tecnológica**, 2010.

DANAEE, E; MOSTOFI, Y E MORADI, P. Effect of GA<sub>3</sub> and BA on Postharvest Quality and Vase Life of *Gerbera* (*Gerbera jamesonii*. cv. Good Timing) Cut Flowers. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 52, n. 2, p. 140-144, 2011.

De Kreij C., Runia W.T., van der Burg A.M.M., 2004. Metabolites, their decomposition, production of tomato and bioassays, from open and closed rockwool system. **Acta Hort.** 644, 425–432.

DURZAN, D.J. Nitrogen metabolism and vegetative propagation of forest trees. In: BONGA, J.M.; DURZAN, D.J. (Ed.) **Tissue culture in forestry**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1985. cap.10, p.256-324

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

GALDIANO JUNIOR, Renato Fernandes; MANTOVANI, Cibele; MACEDO LEMOS, Eliana Gertrudes de. Propagação *in vitro* de *Cattleya trianaei* (Linden & Reichenbach fil.) (Orchidaceae) em meios de culturas e com doses de fertilizante comercial. **Comunicata Scientiae**, p. 210-214, 2012.

GANTAIT S, MANDAL N, BHATTACHARYYA S, DAS PK. Induction and identification of tetraploids using *in vitro* colchicine treatment of *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Sciella. **Plant Cell Tissue Organ Cult**, v.106:, n.3, p.485–493, 2011,

HANSEN, H.V. A taxonomic revision of the genus *Gerbera* (Compositae, Mutisieae) sections *Gerbera*, *Parva*, *Piloselloides* (in Africa), and *Lasiopus*. **Opera Bot.**, v.78, p.1-36, 1985.

HARDING J, HUANG H, BYRNE T. Maternal, paternal, additive, and dominance components of variance in gerbera. **Theor Appl Genet**; v.82, p.756–60,1991.

HUANG MC, CHU CY. A scheme for commercial multiplication of *Gerbera* through shoot tip culture. **J. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science.** , v. 54, n. 1, pág. 94-100, 1985

HUIMEI, Wang; YUANGANG, Z.; HONGMEI, L. Efficient rooting and root development after transfer of regenerated plantlets of *Camptotheca acuminata*. **Eurasian Journal of Forest Research**, v. 10, n. 2, p. 179-184, 2007.

IAEA-TECDOC Low cost options for tissue culture technology in developing countries. IAEA-TECDOC-,IAEA, Vienna. Disponível em <[http://www.pub.iaea.org/MTCDD/publications/PDF/te\\_1384\\_web.pdf](http://www.pub.iaea.org/MTCDD/publications/PDF/te_1384_web.pdf)>. Acessado em 20 novembro 2019.

IBRAFLOR-Instituto Brasileiro de Floricultura. Mercado de Flores, 2015. Disponível em:<<http://www.ibraflor.com/site/2017/11/04/mercado-de-flores-vera-longuini/>>Acesso em: 04 novembro 2019.

INFOAGRO. El cultivo de la gérbera.2014. Disponível em: <https://www.infoagro.com/flores/flores/gerbera.htm>> Acesso em 4 de nov,2019.

JUNQUEIRA, A.H.; PEETZ, M.S. O setor produtivo de flores e plantas ornamentais do Brasil, no período de 2008 a 2013: atualizações, balanços e perspectivas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**,v. 20, p.115-120,2014.

KAUR A, SANDHU JS. High throughput *in vitro* micropropagation of sugarcane (*Sacharum officinarum* L.) from spindle leaf roll segments: cost analysis for Agri-business industry. **Plant Cell Tiss Org Cult** .v.120p.339–350, 2015.

KRIKORIAN, A. D. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. In: ROCA, W. R.; MROGINSKI, L. A.**Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones**. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1991. p. 41-78.

LUDWIG, Fernanda et al. Macronutrientes em cultivares de gérbera sob dois níveis de fertirrigação. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 68-73, 2008.

MEYNET, J.; SIBI, M. Haploid plants from *in vitro* culture of unfertilized ovules in *Gerbera jamesonii*. **Zeitschrift für Pflanzenzüchtung**, v. 93, n. 1, p. 78-85, 1984.

MICRO, SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS; EMPRESAS-SEBRAE, E. PEQUENAS. Flores e plantas ornamentais do Brasil: volume 1-o mercado brasileiro de flores e plantas ornamentais. **Brasília, DF: SEBRAE**, 2015.

- MIYOSHI, K.; ASAKURA, N. Callus induction, regeneration of haploid plants and chromosome doubling in ovule cultures of pot gerbera (*Gerbera jamesonii*). **Plant cell reports**, v. 16, n. 1-2, p. 1-5, 1996.
- MURASHIGE T, SERPA M, JONES JB. Clonal multiplication of *Gerbera* through tissue culture. **HortScience**; v.9; p.175–80,1974.
- MURASHIGE T, SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15 : 473-497,1962.
- NASS (National Agricultural Statistics Service)/USDA (United States Department of Agriculture). 2014. Floriculture crops Summary. Disponível em: <http://www.nass.usda.gov>. Acesso em 26 Out 2019.
- NHUT, Duong Tan *et al.* Effect of genotype, explant size, position, and culture medium on shoot generation of *Gerbera jamesonii* by receptacle transverse thin cell layer culture. **Scientia horticulturae**, v. 111, n. 2, p. 146-151, 2007.
- NIEDZ, RP, HYNDAMN, SE, EVENS, TJ et al .Mineral nutrition and *in vitro* growth of *Gerbera hybrida* (Asteraceae). **Cell in Vitro. Dev. Biol.-Plant**, v. 50, p 458–470, 2014.
- OLDONI, C. M. Produção de gérbéras. 2009. **Informe agropecuário**, v. 30, p. 67-73.
- OLDONI, CHIRLENE MARCIA. **Nutrientes absorvidos e lixiviados em cultivo de gérbéra em vaso, com duas soluções de fertirrigação**. 2008. Tese de Doutorado. UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO.
- ORLIKOWSKA T, NOWAK E, MARASEK A, KUCHARSKA D. Effects of growth regulators and incubation period on *in vitro* regeneration of adventitious shoots from gerbera petioles. **Plant Cell Tissue Organ Cult**;v.59,p.95–102,1999.
- PALAI SK, PATTNAIK S, PATNAIK AK, DAS P. Efficient plant regeneration through callus culture in gerbera (*Gerbera jamesonii*). **The Orissa Journal Of Horticulture** v.26, p.62–7, 1998.
- PEARS, P. P.; FRIENDSHIP, W. SONG, H.; LUX, N.; SANCERRE, F. Cultivars of great demand in international cut flower trade: gerbera., 2014. Disponível em: <[http://www.scribd.com/word/full/2212202?access\\_key=key1mpu4djps4afnauck1](http://www.scribd.com/word/full/2212202?access_key=key1mpu4djps4afnauck1)> Acesso em 03 nov. 2019.
- PEREIRA, L. G. Produção de hastes florais de gérbéra submetidas a diferentes tensões de água no solo. 2013. 70p. Dissertação em: Engenharia e Manejo de Irrigação e Drenagem, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.
- PIERIK, R. L. M. et al. *Optimization of Gerbera plantlet production from excised capitulum explants*. **Scientia Horticulturae**, v. 3, n. 4, p. 351-357, 1975.
- PIERIK, R. L. M.; STEEGMANS, H. H. M.; MARELIS, J. J. Gerbera plantlets from in vitro cultivated capitulum explants. **Scientia Horticulturae**, v. 1, n. 1, p. 117-119, 1973.
- POSADA M, BALLESTEROS N, OBANDO W, ANGARITA A. Micropropagation of gerbera from floral buds. **Acta Horticulture**.v 482:p.329–31,1999.

PRAKASH, S., HOQUE, M.I., BRINKS, T. Culture media and containers. In: Technical meeting of low costs options for tissue culture technology in developing countries. Proceedings, IAEA: FAO, p. 29-40, 2004.

PREIL, W. et al. Haploids in gerbera-jamesonii from invitro cultured capitulum explants. **Zeitschrift fur pflanzenzuchtung-journal of plant breeding**, v. 79, n. 2, p. 167-171, 1977.

REYNOIRD, Jean-Paul et al. Plant regeneration from *in vitro* leaf culture of several Gerbera species. **Plant cell, tissue and organ culture**, v. 33, n. 2, p. 203-210, 1993.

REZENDE, Rodrigo Kelson Silva et al. Organogênese em capítulos florais e avaliação de características anatômicas da folha de Gerbera jamesonii Adlam. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 821-827, 2008.

ROCHA, Laura Fernanda de Lima. **Produção de gérbera em estufa para flor cortada**. 2013. Tese de Doutorado. ISA.

ROGERS, M.N.; TJIA, B.O. **Gerbera production**. Timber Press Growers handbook series, v. 4, 1990. 116 p.

RUSSOWSKI, Denise; TEIXEIRA, Fernando Nicoloso. Nitrogênio e fósforo no crescimento de plantas de ginseng brasileiro [Pfaffia glomerata (Spreng.) Pedersen] cultivadas *in vitro*. **Ciência Rural**, v. 33, n. 1, p. 57-63, 2003.

SAHU, M.K.; TIRKEY, T.; SHARMA, G.; KUSHRAM; TIWARI, T. Effect of Foliar Application of Micronutrientes on Growth and Flower Production of Gerbera., Under Protected Condition. **Journal of Pure & Applied Microbiology**, v.10, n.4, p.3090-3103, 2016.

SAKUTA, Masaaki; TAKAGI, Tsutomu; KOMAMINE, Atsushi. Efeitos da sacarose no acúmulo e crescimento da betacianina em culturas em suspensão de Phytolacca americana. **Physiologia Plantarum**, v. 71, n. 4, pág. 455-458, 1987.

SATO, AURORA YOSHIKO et al. Efeito de diferentes níveis de nitrogênio, em presença ou ausência de benzilaminopurina, na multiplicação de gérbera (Gerbera sp.) de vaso. **Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2001.

SATO, Aurora Yoshiko et al. Fungos micorrízicos-arbusculares no desenvolvimento de mudas de helicônia e gérbera micropropagadas. **Horticultura brasileira**, v. 17, n. 1, p. 25-28, 1999.

SCHADCHINA, T.M.; DMITRIEVA, V.V. Leaf chlorophyll content as a possible diagnostic mean for the evaluation of plant nitrogen uptake from the soil. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.18, n.6, p.1427-1437, 1995.

SEVERIN, C.; GONZALEZ, M.; MURRAY, R. Micropropagación de Gerbera spp. a partir de diferentes explantes. **Revista FAVE**, v. 14, n. 1, p. 67-71, 2000.

SHABANPOUR K, SHARIFI A, BAGHERI A, MOSHTAGHI N. Effect of genotypes and culture medium on shoot regeneration and proliferation of Gerbera jamesonii. **African Journal of Biotechnology**; 10:v.122p.11-7, 2011.

SON, N. V. et al. Response of gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus) varieties to micropropagation. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v. 24, n. 3, 2011.

SOUZA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. *Introdução à micropropagação de plantas*. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006.

TERRA,S.B.;ZUGE,D.P.P.D. Floricultura: a produção de flores como uma nova alternativa de emprego e renda para a comunidade de Bagé-RS. **Revista Conexão UEPG.P**, v.9,n.2-jul/dez.2013.

TOPOONYANONT, N.; DILLEN, W. Capitulum explants as a start for micropropagation of Gerbera: culture technique and applicability. **Mededelingen van de Faculteit landbouwwetenschappen. Rijksuniversiteit Gent**, v. 53, n. 1, p. 169-173, 1988.

TORRES, A. C. et al. **Meio e condições de incubação para a cultura de tecidos de plantas**. Embrapa Hortaliças, 2001.

TOSCA, Alberto; ARCARA, Licia; FRANGI, Piero. Effect of genotype and season on gynogenesis efficiency in Gerbera. **Plant cell, tissue and organ culture**, v. 59, n. 1, p. 77, 1999.

WHITE PR (1943) Nutrient deficiency studies and an improved inorganic nutrient medium for cultivation of excised tomato roots. *Growth*, 7:53-65.

XIA Y, DENG X, ZHOU P, SHIMA K, TEIXEIRA DA SILVA JA. The world floriculture industry: dynamics of production and markets. In: Teixeira da Silva, JA (ed) Floriculture, ornamental and plant biotechnology: advances and topical issues, **Global Science Books**, v. 6, p.336–347, 2006.